



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O PAPEL DA PROTEÍNA APOBEC3 NO CANCRO DA MAMA

Trabalho submetido por
Joana Sofia de Almeida Tavares
Para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Março de 2018



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O PAPEL DA PROTEÍNA APOBEC3 NO CANCRO DA MAMA

Trabalho submetido por

Joana Sofia de Almeida Tavares

Para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por

Prof.^a Doutora Isabel Barahona

Março de 2018

Dedicatória

Aos meus avós. Estejam onde estiverem, levo comigo o vosso amor.

Para sempre.

Agradecimentos

À minha mãe, o amor da minha vida, por todo o amor e paciência. Este trajeto não teria sido possível sem ti, por toda a força e coragem que sempre me deste, em todas as fases da minha vida. És sem dúvida a minha inspiração para tudo.

Ao meu pai, por toda a exigência e amor ao longo da minha vida. Por me ensinar que, com esforço e dedicação, posso alcançar todos os meus sonhos. Obrigada por acreditares sempre em mim.

Ao meu irmão. Eu não seria a mesma sem ti, a vida não tinha metade da graça se não existisses. Obrigada por todos os momentos de gargalhada e por todo o teu apoio incondicional ao longo desta jornada.

À minha cunhada, Tifanny, a pessoa que nunca me deixou desistir e me levantou sempre para cima, quando já não tinha forças. Obrigada por tudo, por ouvires e por lutares pelas duas, por estares sempre lá e por nesta fase não ter sido exceção.

À minha orientadora, Professora Doutora Isabel Barahona por toda a atenção e simpatia, por todo o apoio e paciência ao longo da elaboração deste trabalho.

À Beatriz, és a melhor amiga que vou levar para a vida. Um exemplo de força e perseverança, que me acompanha há 10 anos. Obrigada por todo o apoio incansável, sem ti não teria conseguido. O mundo precisa de mais pessoas como tu.

À Márcia, por estes 5 anos que partilhámos juntas na academia Egas Moniz, que foram talvez os melhores anos da nossa vida. E pelos nossos 8, de muita partilha, gargalhadas e amor. Pelo apoio que tivemos uma na outra e por seres das melhores amigas que tenho. Sem ti, estes 5 anos não teriam sido a mesma coisa.

À Tatiana, uma das pessoas mais especiais da minha vida, que esteve sempre do meu lado, em todas as fases da minha vida.

À Ana Veloso, uma das amigas que a faculdade me deu e que eu sei que é para a vida. Ao longo destes anos, estiveste sempre do meu lado, no que eu precisasse e não precisasse. Obrigada por todo o teu carinho.

A uma amizade, não desde sempre, mas que eu sei que será para sempre. Alexandre Gomes, obrigada pelo amigo em que te tornaste, por todos os conselhos que eu precisava de ouvir. Nunca vou esquecer.

À minha querida Helena, por nunca teres desistido de mim e te teres tornado na amiga em que te tornaste. Obrigada por todos os sábios conselhos quando mais precisei, obrigada por me mostrares que, se eu quiser, sou capaz de tudo.

Um especial agradecimento à Patrícia e à Sara, por todo o carinho ao longo destes anos. Pela vossa inigualável amizade. São insubstituíveis.

À Mariana e à Sara Jesus, pela vossa força constante. Por me acompanharem nesta fase tão difícil, dando-me sempre os melhores conselhos. Obrigada por terem acreditado em mim.

De coração, obrigada.

Resumo

Enquadramento: O cancro da mama é uma das neoplasias mais diagnosticadas entre as mulheres, sendo uma doença complexa e multifatorial que, dependendo das necessidades de cada doente, necessita de uma abordagem individualizada. Neste contexto, a família APOBEC, mais especificamente a subfamília APOBEC3, tem sido associada a mutações ao nível do genoma tendo influência na carcinogénese e progressão de diversos cancros humanos, nomeadamente no cancro da mama. Os mecanismos envolvidos nestes processos são ainda pouco claros, no entanto, o seu conhecimento poderá trazer vantagens para o prognóstico e diagnóstico do cancro da mama, bem como algumas alternativas à sua terapêutica.

Objetivo: Esta monografia tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica da literatura atual e pertinente, referente ao papel que a subfamília APOBEC3 desempenha no contexto do cancro da mama.

Metodologia: Para a elaboração desta monografia foi realizada uma pesquisa bibliográfica de diversos artigos científicos, compreendidos, na sua globalidade, entre os anos 2000 e 2017. Para tal, foram utilizadas algumas bases de dados *online*, nomeadamente *PubMed*, *Medline*, *ScienceDirect*, *Google Scholar* e *b-on*, através da introdução de algumas palavras-chave.

Resultados e conclusão: A revisão bibliográfica efetuada nesta monografia permitiu concluir que apesar dos mecanismos que estão envolvidos na capacidade mutagénica que a grande família de proteínas APOBEC tem sido associada, não serem claros e existir informação insuficiente, a subfamília APOBEC3B tem mostrado grande impacto na carcinogénese de muitos cancros humanos. Deste modo, torna-se de extrema importância que mais estudos sejam realizados neste âmbito, por forma a desenvolver moléculas que consigam suprimir esta capacidade mutagénica da proteína APOBEC, de modo a diminuir muitas das resistências às terapêuticas instituídas aos doentes com cancro da mama.

Palavras-chave: Cancro da Mama, APOBEC, APOBEC3, APOBEC3B, Carcinogénese

Abstract

Framework: Breast cancer is one of the most diagnosed neoplasms among women, being a complex and multifactorial disease that, depending on the needs of each patient, requires an individualized approach. In this context, the APOBEC family, more specifically the subfamily APOBEC3, has been associated with mutations at the genome level having influence on the carcinogenesis and progression of various human cancers, namely in breast cancer. The mechanisms involved in these processes are still unclear, however, their knowledge may bring advantages to the prognosis and diagnosis of breast cancer, as well as some alternatives to its therapeutics.

Aim: This monograph aims to make a bibliographical review of current and pertinent literature regarding the role that the subfamily APOBEC3 plays in the context of breast cancer.

Method: For the elaboration of this monograph, a bibliographical research was carried out on several scientific articles, comprehending, in their entirety, between the years 2000 and 2017. To do this, some online databases were used, namely PubMed, Medline, ScienceDirect, Google Scholar and b-on by introducing some keywords.

Results and Conclusions: The literature review concluded that despite mechanisms that are involved in the mutagenic capacity that the large APOBEC family of proteins has been associated with, are not clear and there is insufficient information, the subfamily APOBEC3B has shown great impact on carcinogenesis of many human cancers. Thus, it is of the utmost importance that further studies are carried out in this field in order to develop molecules that succeed in suppressing this mutagenic ability of the APOBEC protein, so as to reduce many of the resistance to the therapeutics instituted for patients with breast cancer.

Keywords: Breast Cancer, APOBEC, APOBEC3, APOBEC3B, Carcinogenesis

Índice geral

Resumo	1
Abstract.....	3
Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas.....	9
Lista de Siglas e Abreviaturas	11
1.Introdução Teórica.....	13
1.1 Anatomia da Mama	14
1.2 Cancro da Mama.....	17
1.2.1 Epidemiologia.....	17
1.2.2 Fatores de Risco do Cancro da Mama	21
1.2.2.1 Fatores Reprodutivos e Idade.....	21
1.2.2.2 História Familiar	23
1.2.2.3 Estilo de vida.....	23
1.2.2.4 Estrogénio.....	24
1.2.2.5 Doença Benigna da Mama	25
1.2.2.6 BRCA1 e BRCA2	26
1.2.3 Sintomatologia	27
1.2.4 Estadiamento.....	28
1.2.5 Tipos de Cancro da Mama	29
2. Carcinogénese do Cancro da Mama	35
3. Biomarcadores no Cancro da Mama	37
3.1 Testes Moleculares para o Prognóstico de Cancro da Mama.....	37
3.1.1 Oncotype DX	37
3.1.2 MammaPrint	38

3.1.3 uPA e PAI-1	38
3.1.2 Outros Testes Moleculares com Biomarcadores	39
4. Tratamento do Cancro da Mama	41
4.1 Terapêutica Adjuvante.....	41
4.2 Terapêutica Neoadjuvante	44
4.3 Terapêutica do Cancro da Mama Metastizado	48
5.1 Família APOBEC	51
5.2 Subfamília APOBEC3	53
7. Bibliografia.....	59

Anexos

Índice de Figuras

Figura 1: Componentes da Anatomia da Mama Feminina (Adaptada de <i>National Cancer Institute</i> , 2011).....	15
Figura 2: Unidade lobular da mama (Adaptada de McGuire, 2016).	16
Figura 3: Incidência estimada de cancro da mama nas mulheres, no Mundo (retirada de Globocan, 2012).	18
Figura 4: Mortalidade estimada de cancro da mama nas mulheres, no Mundo (retirada de Globocan, 2012).	18
Figura 5: Incidência e mortalidade por cancro nos países mais desenvolvidos e em desenvolvimento nas mulheres (adaptada de Globocan, 2012).....	19
Figura 6: Evolução do número de mulheres convidadas e rastreadas em Portugal (retirada de Programa Nacional para as Doenças Oncológicas, 2017).....	20
Figura 7: Carcinoma ductal in situ (CDIS) (adaptada de <i>National Cancer Institute</i>).	30
Figura 8: Carcinoma lobular in situ (CLIS) (adaptada de <i>National Cancer Institute</i>).	31
Figura 9: Cancro da mama inflamatório, com aspeto casca de laranja e mamilo invertido (retirada de <i>National Cancer Institute</i>).	32
Figura 10: Representação da resposta dos tumores ao tratamento, por mamografia. A – Parcial, B – Total (adaptada de Semiglazov, 2007).	47
Figura 11: Sequência de opções de tratamento do CMM HER2+ (adaptada de Jiang & Rugo, 2015).	50

Índice de Tabelas

Tabela 1: Indicadores de mortalidade relativamente ao cancro da mama.....	20
Tabela 2: Estadiamento do cancro da mama tendo por base a classificação TNM, segundo a 7ª edição do AJCC.....	28
Tabela 3: Terapia endócrina neoadjuvante versus quimioterapia neoadjuvante	46

Lista de Siglas e Abreviaturas

APOBEC – do Inglês *Apolipo Protein BmRNA Eding Enzyme, Catalytic Polypeptide Like*

ARE – Antagonistas dos Recetores de Estrogénio

CD – Domínio Catalítico (do Inglês *Catalytic Domain*)

CDI – Carcinoma Ductal Invasivo

CDIS – Carcinoma Ductal *in situ*

CLI – Carcinoma Lobular Invasivo

CLIS – Carcinoma Lobular *in situ*

CM – Cancro da Mama

CMI – Cancro da Mama Inflamatório

CMM – Cancro da Mama Metastizado

CNV – do Inglês *Copy Number Variation*

DBM – Doença Benigna da Mama

HER2 – Fator de Crescimento Epidérmico Tipo 2 (do Inglês *Human Epidermal growth factor Receptor-type 2*)

IA – Inibidores da Aromatase

IGF-1 – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (do Inglês *Insulin-Like Growth Factor 1*)

MINDACT – do Inglês *Microarray in Node-Negative and One to Three Positive Lymph Node Disease May Avoid Chemotherapy*

MRE – Modulador Seletivo do Recetor de Estrogénio

PAI-1 – do Inglês *Plasminogen Activator Inhibitor-1*

PCD – Domínio Pseudocatalítico (do Inglês *Pseudocatalytic Domain*)

RE – Recetor de Estrogénio

RP – Recetor de Progesterona

RS – Índice de Recorrência (do Inglês *Recurrence Score*)

SG – Sobrevida Global

SLD – Sobrevida Livre da Doença

SNP – do Inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*

TEN – Terapêutica Endócrina Neoadjuvante

TNM – Tumor Primário, Gânglios e Metástases (do Inglês *Tumor, lymph Nodes, Metastasis)*

TQN – Terapêutica com Quimioterapia Neoadjuvante

TRH – Terapia de Reposição Hormonal

UICC – União Internacional para o Controlo do Cancro (do Inglês *Union for International Cancer Control*)

uPA – Plasminogénio do tipo uroquinase (do Inglês *Urokinase Plasminogen Activator*)

1.Introdução Teórica

O cancro da mama é, em todo o mundo, uma das neoplasias que mais afeta as mulheres, sendo considerada a segunda principal causa de morte por cancro no sexo feminino, em muitos países (figura 1) (Ferlay *et al.*, 2015; Rezaei, Hashemi, Hashemi, Mashhadi, & Taheri, 2015).

Nos países mais desenvolvidos, o cancro da mama é a neoplasia mais diagnosticada, entre as mulheres, à semelhança do que acontece nos países em desenvolvimento (Kgaa, 2014). No entanto, os países em desenvolvimento apresentam maior taxa de mortalidade (Ghoncheh, Pournamdar, & Salehiniya, 2016).

Em 2012 foram registados cerca de 1,67 milhões de novos casos de cancro da mama (Ferlay *et al.*, 2015) e 521,900 mortes devido à doença, representando 15% das mortes por cancro, entre as mulheres, em todo o mundo (Kgaa, 2014).

Em Portugal, à imagem do que se passa no resto da europa, tem se assistido, nos últimos anos, a um aumento regular da incidência de Cancro. Este aumento, de aproximadamente 3% ao ano, está intimamente relacionado com o envelhecimento da população. O aumento da percentagem de sucesso de tratamento tanto do cancro como de outras patologias, abre portas ao aparecimento de novas neoplasias (Direção-Geral da Saúde., 2017). No entanto, estes factos, intimamente relacionados com o aumento da incidência de cancro estão também coadunados com as alterações nos estilos de vida e com o aumento da exposição a fatores de risco (Ghoncheh *et al.*, 2016).

Apesar de o número de casos de Cancro ser cada vez maior, tem-se assistido também a um aumento da taxa de sucesso de tratamento deste grupo de doenças, o que sugere que, apesar da grande incidência, a mortalidade tem vindo a diminuir gradualmente. Neste contexto, no caso do sexo masculino observou-se uma taxa de 92 mortes em 2010 relativamente a 89,2 mortes em 2015 e, no sexo feminino estimou-se uma taxa de 49,7 mortes em 2010 em comparação com 47,6 mortes em 2015, por 100 000 habitantes (Direção-Geral da Saúde., 2017).

No cancro da mama, tal como em todos os tipos de doenças, pensa-se que o diagnóstico precoce e os avanços no tratamento aumentam a taxa de sobrevivência, sendo por isso dado cada vez mais ênfase à importância dos programas de rastreio (Direção-Geral da Saúde., 2017; Youliden *et al.*, 2012).

A etiologia do cancro da mama é de difícil definição devido à multiplicidade de fatores que se encontram envolvidos na sua patogénese (Rezaei et al., 2015), no entanto, indicadores como a idade, história familiar de doença, fatores hormonais e ambientais e predisposição genética podem influenciar a probabilidade de vir a sofrer com a doença (Bayraktar & Arun, 2016).

É importante salientar, que os fatores genéticos apresentam um papel fulcral na compreensão da patogénese e na progressão do cancro da mama, sendo o seu estudo muito importante. Assim, é essencial identificar as mutações no genoma em posições críticas que provocam a transformação das células normais em células cancerígenas, facto que está inerente às neoplasias (Rezaei *et al.*, 2015).

Nesta introdução teórica irei evidenciar a anatomia da mama, bem como dar ênfase ao cancro da mama, especificando os sintomas da doença, o seu estadiamento, os fatores de risco e o tratamento desta neoplasia.

1.1 Anatomia da Mama

A compreensão da anatomia da mama e da sua fisionomia é de extrema importância por diversas razões. Isto porque, em primeiro lugar é fundamental que não haja equívocos entre as variações da anatomia normal da mama e um possível transtorno patológico além de que o conhecimento da localização da anomalia na mama, permite restringir a lista de prováveis diagnósticos (Jesinger, 2014).

As mamas femininas e masculinas situam-se na parede anterior e superior do tórax, entre a segunda e sexta/sétima costelas entre o bordo do esterno e a linha axilar média. São duas estruturas glandulares pares que têm origem em glândulas sudoríparas (Bernardes, 2011; McGuire, 2016).

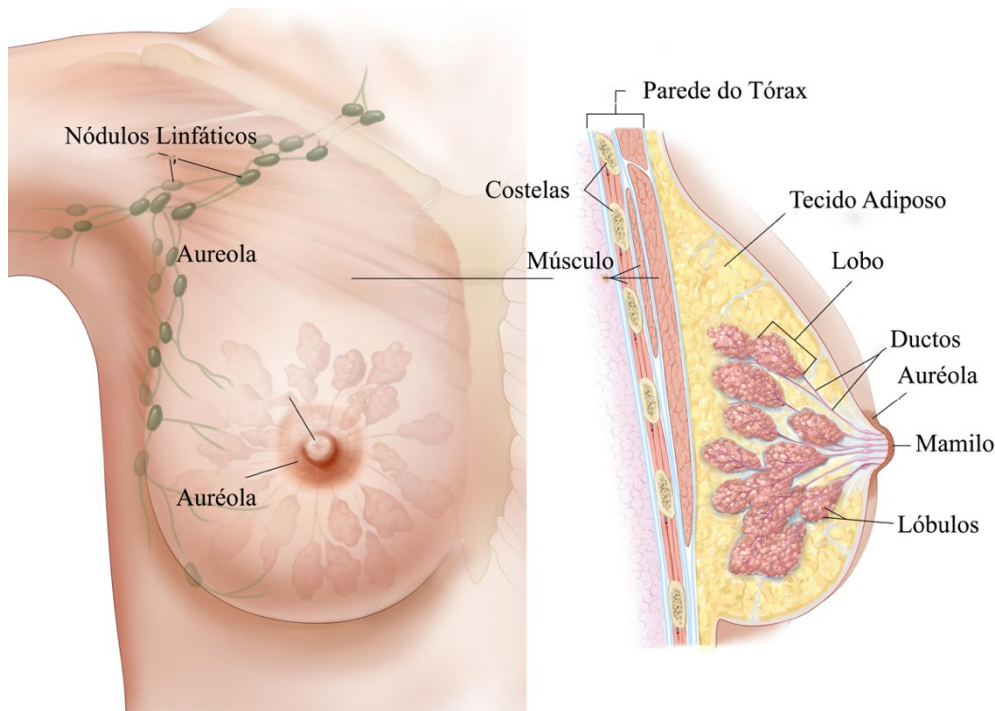


Figura 1: Componentes da Anatomia da Mama Feminina (Adaptada de *National Cancer Institute*, 2011).

A mama humana sendo uma glândula exócrina cutânea modificada, tem na sua constituição pele e tecido subcutâneo, parênquima mamário (ductos e lóbulos) e estroma como suporte (ver figura 1). Em adição, a gordura que constitui as mamas encontra-se intercalada numa rede complexa de nervos, ligamentos, artérias, veias e linfa (Jesinger, 2014).

Como referido a mama é constituída por pele, sendo esta a sua camada mais superficial, mas também pela fáscia superficial, camada esta que fica por baixo da pele e pelo parênquima mamário que envolve três tipos de tecido, o tecido epitelial glandular, o estroma fibroso, estruturas de suporte e gordura (Mcguire, 2016).

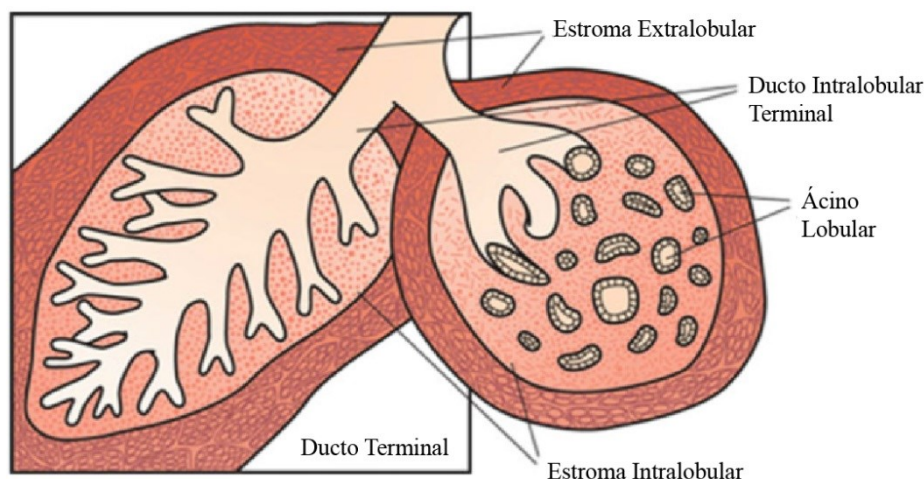


Figura 2: Unidade lobular da mama (Adaptada de McGuire, 2016).

A componente epitelial da mama corresponde a cerca de 10% a 15% do volume total, sendo que o restante designado por elementos estromais. A mama é constituída por 15 a 20 lobos e estes, por sua vez, dividem-se em diversos lóbulos que são constituídos por ácinos (glândulas produtoras de leite), cujo número varia entre 20 a 40 (ver figura 2) (Pandya & Moore, 2011).

Cada lobo é drenado por um canal excretor próprio, denominado canal lactífero. Estes canais convergem todos para a base da papila, passando primeiramente por uma dilatação fusiforme, designada por seio lactífero. Os canais comunicam com o exterior através de orifícios arredondados presentes no mamilo (Bernardes, 2011; Pandya & Moore, 2011).

O epitélio ductal é composto por células epiteliais que têm como função impulsionar o leite, através dos ductos. Estas células, tal como todas as outras, encontram-se cercadas por uma membrana basal contínua (Mcguire, 2016).

As mamas encontram-se divididas em quatro quadrantes: superior interno, superior externo, inferior interno e inferior externo. O tamanho, contorno e densidade das mamas varia de indivíduo para indivíduo, o que se explica pelo volume de tecido adiposo que se encontra entre os lóbulos (Pandya & Moore, 2011).

1.2 Cancro da Mama

O local mais comum das neoplasias da mama é o quadrante superior externo. As células no seu processo normal de divisão celular crescem e multiplicam-se, no entanto, se este processo ocorrer de forma descontrolada, as células poderão sofrer alterações no seu material genético, podendo transformar-se em células cancerígenas, originando, consequentemente um tumor (Gomes *et al.*, 2013).

O cancro da mama (CM) é das neoplasias com maior incidência entre as mulheres, representando, em 2012, 25% de todos os cancros, com uma estimativa, por ano, de 1,7 milhões de novos casos (Ghoncheh *et al.*, 2016). Dados relativos ao ano de 2012 demonstram também que o CM é a principal causa de morte por cancro nos países em desenvolvimento, ao contrário do que acontece nos países mais desenvolvidos, em que é a segunda principal causa de morte por cancro, a seguir ao cancro do pulmão (Ferlay *et al.*, 2015).

1.2.1 Epidemiologia

Em 2012 foram registados cerca de 14,9 milhões de casos de CM, prevendo-se que nas próximas duas décadas a estimativa seja de 22 milhões de novos casos, no mundo (Ghoncheh, Pournamdar, & Salehiniya, 2016).

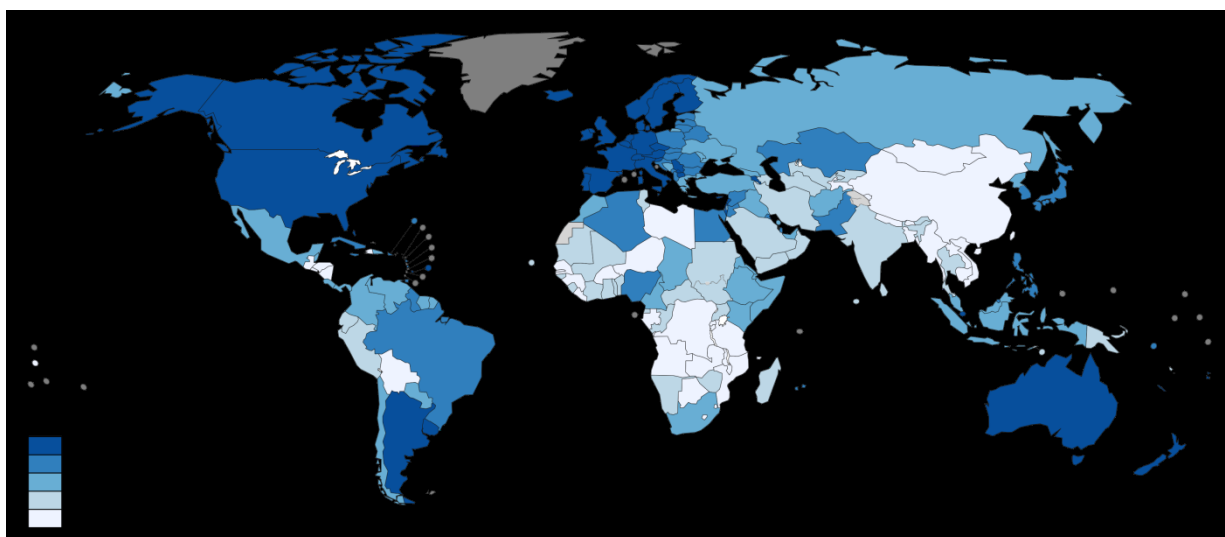


Figura 3: Incidência estimada de cancro da mama nas mulheres, no Mundo (retirada de Globocan, 2012).

Por sua vez, o CM apresenta maior incidência na América do Norte, Austrália e na Europa, mais especificamente no Norte e Ocidente. Em contraste, as regiões com menor incidência são a África e a Ásia (ver figura 3).

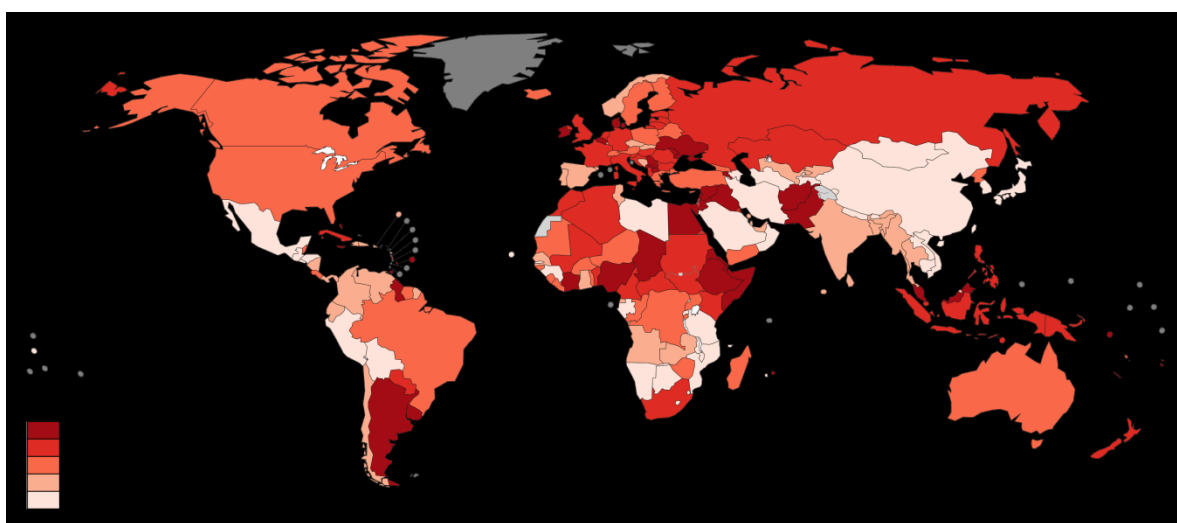


Figura 4: Mortalidade estimada de cancro da mama nas mulheres, no Mundo (retirada de Globocan, 2012).

Relativamente à mortalidade, as regiões menos desenvolvidas, como por exemplo a África Subsariana, (ver figura 4), apresentam uma taxa superior de mortalidade por esta patologia, o que sugere que, a baixa incidência nestes países possa ser devida a casos de CM que não foram diagnosticados por falta de acesso aos

cuidados de saúde e, por sua vez, ao seu tratamento (Kgaa, 2014; Youlden *et al.*, 2012).

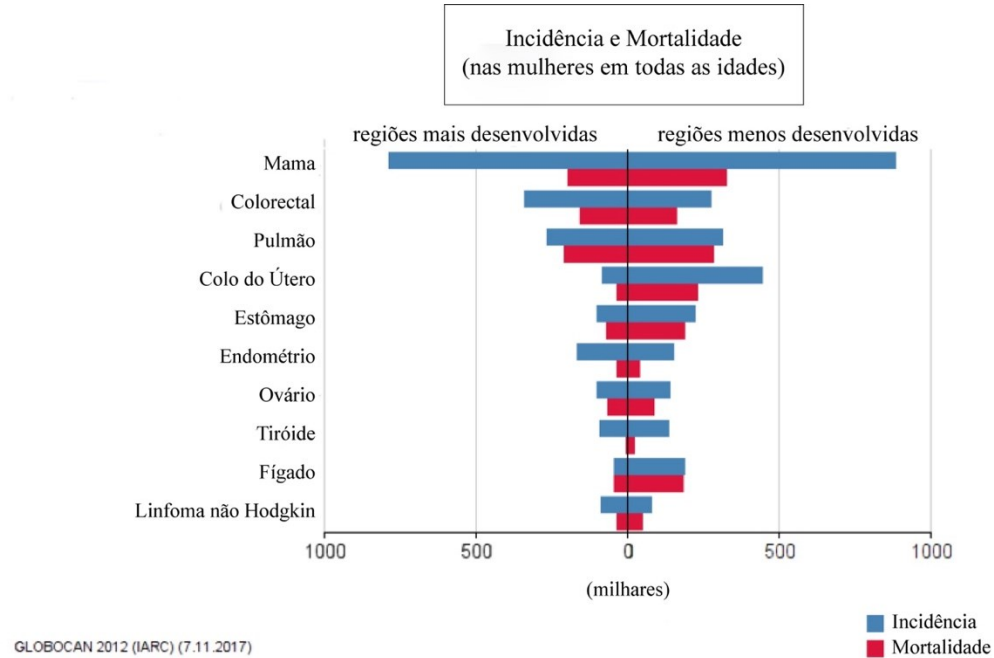


Figura 5: Incidência e mortalidade por cancro nos países mais desenvolvidos e em desenvolvimento nas mulheres (adaptada de Globocan, 2012).

Nos países mais desenvolvidos os três principais tipos de cancro mais prevalentes na mulher, são o cancro da mama, dos pulmões e o colorectal. Em contrapartida, nos países em desenvolvimento a maior incidência recai sobre o cancro da mama, do cólo do útero e dos pulmões (ver figura 5) (Kgaa, 2014).

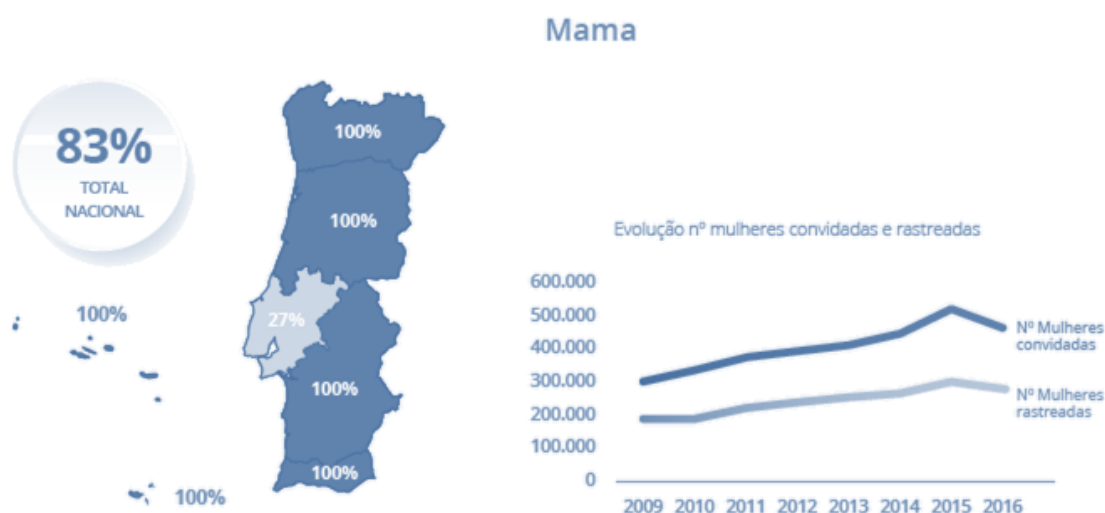
Em Portugal, à semelhança do que se observa no resto do mundo, a incidência de cancro da mama aumenta de ano para ano, no entanto os dados apresentados em 2015 mostram que a variação da mortalidade desta patologia aumentou muito ligeiramente, como se pode observar na tabela 1. Além disso, Portugal continua a apresentar os valores mais baixos da União Europeia (Direção-Geral da Saúde, 2017).

Tabela 1: Indicadores de mortalidade relativamente ao cancro da mama, entre 2011 e 2015 (adaptada de Direção-Geral de Saúde, 2017)

TUMOR MALIGNO DA MAMA FEMININA (por 100 000 habitantes)

	2011	2012	2013	2014	2015
<i>Nº de óbitos</i>	1.634	1.752	1.640	1.660	1.683
<i>Mortalidade padronizada</i>	19.0	20.0	18.2	17.9	18.2

Figura 6: Evolução do número de mulheres convidadas e rastreadas em Portugal (retirada de Programa Nacional para as Doenças Oncológicas, 2017).



Estas diferenças de variação, tanto a nível mundial como europeu, na incidência de CM derivam, essencialmente, de fatores reprodutivos, hormonais e da acessibilidade de serviços para a deteção precoce da doença. A deteção precoce do CM recorrendo, por exemplo, à mamografia, não só tem permitido reduzir a taxa de mortalidade, como também tem permitido melhorar o prognóstico da doença, possibilitando mais opções de tratamento resultando, consequentemente, no aumento da taxa de sobrevivência (Ghoncheh et al., 2016; Jemal, Bray, & Ferlay, 2011).

Em 2016, relativamente a Portugal, foram realizados diversos esforços no âmbito dos rastreios oncológicos com o objetivo de aumentar o número de utentes rastreados e aumentar a taxa de adesão por parte da população (ver figura 6). As grandes apostas no futuro, em Portugal, passam, não só, pela promoção da adoção de

comportamentos mais saudáveis como também do diagnóstico precoce (Direção-Geral da Saúde., 2017).

1.2.2 Fatores de Risco do Cancro da Mama

Apesar da etiologia exata do CM ser complexa e não estar completamente identificada, pensa-se que a sua patogénese possa estar relacionada com diversos fatores (Rezaei *et al.*, 2015). A idade, os fatores reprodutivos, história familiar ou pessoal de CM, fatores ambientais e também a suscetibilidade genética são fatores muito importantes a ter em conta, pois encontram-se associados ao risco aumentado de vir a desenvolver cancro da mama (Bayraktar & Arun, 2016).

As diferenças que se observam a nível mundial relativamente à incidência e à mortalidade do CM, são indicativos de extrema importância das desigualdades existentes, entre países. Estas diferenças incluem os fatores reprodutivos e a idade, história familiar, estilo de vida, estrogénio, doença benigna da mama e os genes BRCA1 e BRCA2 (Hulka & Moorman, 2001).

1.2.2.1 Fatores Reprodutivos e Idade

Mundialmente, 89% dos casos de cancro da mama são diagnosticados em mulheres a partir dos 40 anos de idade. No entanto, existem situações em que os tumores malignos na mama se desenvolvem em idades mais jovens, o que geralmente é sinónimo de tumores com maiores dimensões, menos diferenciados e com maior propensão para metástases. Estes casos mais agressivos e em idades mais precoces, apresentam maior foco na Ásia e na África comparativamente com a Europa e o Norte da América (Youlden *et al.*, 2012).

Como referido anteriormente, mulheres em idade mais jovem que desenvolvem CM geralmente apresentam casos com características mais agressivas que as mulheres mais velhas, apresentando uma pior sobrevida livre da doença (SLD) e sobrevida global (SG). O risco de vir a desenvolver CM aumenta com a idade até à menopausa, risco este que duplica aproximadamente a cada 10 anos, no entanto, após a menopausa este valor diminui drasticamente (Bayraktar & Arun, 2016; McPherson, 2000).

Relativamente aos fatores reprodutivos, mulheres que nunca engravidaram ou nunca tiveram filhos, que tiveram a primeira menstruação em idade precoce, que tiveram a menopausa em idade mais tardia e que experienciaram pela primeira vez uma gravidez a termo tardiamente, apresentam maior risco de vir a desenvolver CM (Colditz & Bohlke, 2014; Kgaa, 2014).

No entanto, apesar de o facto de mulheres que já tiveram filhos ser indicativo de menor risco de vir a desenvolver CM, estudos demonstram que a amamentação possa também estar relacionada com o menor risco de ter a doença em comparação com mulheres que nunca amamentaram, contudo este efeito da amamentação não está bem determinado (Kgaa, 2014; Tamimi *et al.*, 2016).

É de salientar que a amamentação está intimamente relacionada com vários aspetos da gravidez, ou seja, uma mulher só amamenta após ter um filho e quanto mais cedo tiver filhos maior será a probabilidade de vir a ter mais crianças e do período de amamentação ser mais prolongado (Beral *et al.*, 2002). Tendo em conta este facto, a duração do tempo de amamentação é de extrema importância, pois quanto maior for o período de amamentação maior será a influência na redução do risco de vir a desenvolver CM (Chowdhury *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2015).

Este efeito protetor da amamentação pode ser explicado tendo em conta os mecanismos biológicos que lhe estão subjacentes. Após a gravidez ocorre diferenciação das células mamárias, o que vai permitir que as células sejam modificadas para produzirem leite, assim, a suscetibilidade do tecido mamário aos efeitos cancerígenos, por exemplo dos estrogénios, é reduzida (Unar-Munguia, Torres-Mejia, Colchero, & Gonzalez de Cosio, 2017).

Além disso, existe evidência que as elevadas concentrações séricas de insulina podem aumentar as concentrações séricas do fator de crescimento IGF-1, fator este que se encontra associado à proliferação e à anti apoptose no tecido mamário. Assim, uma mulher a amamentar tem as concentrações séricas de insulina mais baixas dado que há um aumento da utilização da glucose por parte da glândula mamária e por isso, uma diminuição de IGF-1 (Gunderson *et al.*, 2011; Unar-Munguia *et al.*, 2017).

1.2.2.2 História Familiar

O risco de CM na mulher aumenta se houver uma história familiar da doença. Quer isto dizer que, a título de exemplo, mulheres cuja mãe ou irmã sofram de cancro da mama, apresentam maior probabilidade de vir a desenvolver a doença. Segundo Brewer *et al* (2017), após a realização de um estudo que envolveu 113.000 mulheres foi possível concluir que, as mulheres que tinham um parente em primeiro grau com CM apresentavam um risco 1,75 vezes superior de poder vir a desenvolver a doença em comparação com mulheres que não possuíam parentes afetados (Bayraktar & Arun, 2016; Brewer, Jones, Schoemaker, Ashworth, & Swerdlow, 2017; Sun *et al.*, 2017).

Para além do mencionado, o risco aumentado de CM está associado ao número crescente de parentes em primeiro grau que sejam afetados pelo cancro da mama. Desta forma, o risco torna-se cerca de 2,5 vezes superior em mulheres que apresentem dois ou mais parentes em primeiro grau que sofram desta neoplasia comparativamente com mulheres que não apresentem familiares diagnosticados com CM. Assim, por sua vez, este risco vai aumentando com o aumento do número de familiares afetados pelo CM (Bayraktar & Arun, 2016; Sun *et al.*, 2017).

1.2.2.3 Estilo de vida

Mundialmente, 20% dos casos de cancro da mama ocorrem devido aos fatores de risco modificáveis, tais como o consumo de álcool, o excesso de peso corporal (obesidade) e a inatividade física (Kgaa, 2014).

Atualmente, o consumo excessivo de álcool e as dietas ricas em gorduras estão cada vez mais presentes nos estilos de vida modernos. No entanto, a adoção destes comportamentos pode aumentar o risco de CM. As dietas ricas em gorduras, essencialmente gorduras saturadas, estão relacionadas com o mau prognóstico dos doentes com cancro da mama e, a ingestão de 35-44 gramas de álcool por dia pode levar a um aumento de cerca de 32% do risco de vir a desenvolver CM (Sun *et al.*, 2017).

A prática regular de exercício físico é outro fator a ter em conta, isto porque a atividade física não só permite reduzir o risco de vir a desenvolver cancro da mama

como tem um papel importante na redução do risco de recorrências da doença após o diagnóstico. Além disso, a prática de exercício físico regular após o diagnóstico de cancro da mama foi também associada à diminuição do número de mortes por esta neoplasia (Bayraktar & Arun, 2016; R. T. Chlebowski, 2017).

A obesidade é um problema de saúde pública, sendo que a incidência de CM é cerca de 20% superior nas mulheres obesas do que nas mulheres com peso normal. Desta forma, este fator contribui para o aumento do risco de vir a desenvolver CM, especificamente nas mulheres após a menopausa. Esta associação, entre o cancro da mama pós-menopausa e a obesidade, pode ser explicada, em parte, pelo facto de o estrogénio, outro fator de risco do cancro da mama, ser sintetizado no tecido adiposo (Bayraktar & Arun, 2016; R. T. Chlebowski, 2017; Gunter *et al.*, 2009).

1.2.2.4 Estrogénio

Os estrogénios endógenos e exógenos estão também associados ao risco de CM. O estrogénio endógeno é produzido pelo ovário, nas mulheres na pré-menopausa, e as fontes principais de estrogénio exógeno são geralmente os contraceptivos hormonais e a terapia de reposição hormonal (TRH) (Sun *et al.*, 2017).

Como referido anteriormente, nas mulheres na pré-menopausa o estrogénio é essencialmente produzido nas células do ovário e o enzima aromatase permite a conversão da testosterona e da androstenediona em estradiol e estrona, respetivamente. A regulação da produção de estradiol pelo ovário é feita através do controlo da hormona que estimula o folículo, e a sua secreção é cíclica, apresentando grandes flutuações na concentração de estradiol e progesterona ao longo do ciclo menstrual (Folkerd & Dowsett, 2013).

Após a menopausa, a produção, por parte dos ovários, de progesterona e estrogénio diminui consideravelmente, e os níveis de estradiol, que continuam nos tecidos periféricos, não sofrem grandes oscilações, permanecendo constantes e em níveis baixos, relativamente às mulheres mais novas (Folkerd & Dowsett, 2013). Assim, é sugestivo que o risco de cancro da mama devido a uma idade mais precoce da primeira menstruação e uma idade mais tardia na menopausa, esteja relacionado com o tempo de exposição às hormonas ao longo da vida (Hulka & Moorman, 2001).

A terapia de reposição hormonal, visa reduzir e aliviar os efeitos da diminuição da produção de estrogénio e progesterona, característicos da menopausa. A TRH pode ser realizada de diversas formas: tratamento apenas com estrogénio ou combinação do estrogénio ou com a progesterona ou com a progestina, que é uma hormona sintética (National Cancer Institute, 2011).

Desta forma, a TRH tem sido associada ao aumento do risco de cancro da mama nas mulheres após a menopausa devido à duração da terapia, durante e após um curto período de ser cessada a sua toma (Pike, Ross, Paganini-Hill, & Wan, 2000). No entanto, a combinação do estrogénio com a progesterona está relacionada com um maior aumento do risco de CM, comparativamente à terapia exclusiva com estrogénio (R. Chlebowski *et al.*, 2009; Clemons & and Goss, 2001; Pike *et al.*, 2000).

Por último, o efeito dos contraceptivos hormonais no cancro da mama é complexo e os estudos continuam a ser ambíguos e dispares. No entanto, segundo um estudo realizado por Mørch *et al.*, (2017), as mulheres que utilizaram contraceptivos hormonais, por longos períodos de tempo (≥ 5 anos), apresentaram um risco superior de desenvolver CM em comparação com mulheres que nunca usaram métodos de contraceção hormonal. Além disso, o risco manteve-se também superior mesmo após a descontinuação da toma dos contraceptivos hormonais, por 5 anos ou mais, comparativamente com as mulheres que nunca tinham utilizado contraceptivos hormonais (Clemons & and Goss, 2001; Mørch *et al.*, 2017; Soroush *et al.*, 2016).

1.2.2.5 Doença Benigna da Mama

Muitas mulheres preocupam-se com as alterações da mama, pois estas são indicativas de possível cancro da mama, que é uma das neoplasias mais comuns entre as mulheres, em todo o mundo. No entanto, a maior parte das lesões da mama são benignas, sendo até mais frequentes que as malignas (Guray & Sahin, 2006).

As lesões podem ser agrupadas em quatro formas distintas: não proliferativas, proliferativas sem atipia, proliferativas com atipia e carcinoma lobular *in situ* (CLIS) (Tice *et al.*, 2015).

Fazem parte do diagnóstico não proliferativo os fibroadenomas, quistos, calcificações, adenose não esclerosante, alterações fibroquísticas, lipomas e necrose do tecido adiposo. Relativamente às lesões proliferativas sem atipia, inclui-se: carcinoma ductal, fibroadenomas complexos, adenose esclerosante e papiloma intraductal. Por último, no diagnóstico das lesões proliferativas com atipia é característica a hiperplasia ductal atípica e a hiperplasia lobular atípica (Guray & Sahin, 2006; Tice *et al.*, 2015). O CLIS será abordado mais adiante neste trabalho.

A doença benigna da mama (DBM) e a densidade mamária são dois fatores independentes, com uma forte influência no risco de cancro, isto porque mulheres com uma elevada densidade mamária e com evidência de lesões proliferativas, apresentam um risco aumentado de vir a desenvolver CM (Tice *et al.*, 2013).

Mulheres com doenças benignas da mama (DBM) comparativamente com mulheres que não têm DBM, apresentam um risco superior de vir a desenvolver cancro da mama. Este risco é 30% superior no caso de lesões proliferativas, cerca de 2 vezes superior para as lesões proliferativas sem atipia e acresce 4 vezes mais no caso de lesões proliferativas com atipia (Samoli *et al.*, 2013).

1.2.2.6 BRCA1 e BRCA2

São muitos os genes que estão associados ao risco de vir a desenvolver cancro da mama, que têm uma grande influência no processo de formação e progressão desta neoplasia. Um exemplo disso, são os genes BRCA1 e BRCA2 que são dois anti-oncogenes localizados no cromossoma 17q21 e 13q12, respetivamente (Stuckey, 2011; Sun *et al.*, 2017).

Os genes BRCA1 e BRCA2 funcionam como genes supressores de tumor, tendo um papel fulcral na reparação de mutações no DNA, e são herdados de forma autossómica dominante (Bayraktar & Arun, 2016). Assim, uma anomalia no gene BRCA1 origina uma desregulação no controlo do ciclo celular, instabilidade genética, novas mutações e ativação de oncogenes que, consequentemente, irão contribuir para a formação do CM (Deng, 2006).

Estes genes estão também envolvidos na reparação de ruturas na cadeia dupla do DNA, por recombinação homóloga interagindo com o RAD51. Assim, após os danos sucedidos no DNA, o gene BRCA1 associa-se ao RAD51 e localiza a região que foi danificada, originando fosforilação no gene BRCA1. Por outro lado, o gene BRCA2 vai auxiliar o gene BRCA1 ao funcionar como um mediador, formando também um complexo com o RAD51, facilitando o processo de reparação por recombinação homóloga (Bayraktar & Arun, 2016; Roy, Chun, & Powell, 2016).

Se ocorrerem mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, a sua capacidade de reparação de quebras nas moléculas de DNA ficará comprometida e ocorrerão também, erros nessa reparação, provocando instabilidade genética (Bayraktar & Arun, 2016).

Consequentemente, mulheres que apresentam mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 são mais propensas a desenvolver cancro da mama, apresentando um risco significativamente superior em relação à população em geral. Ao longo da vida, o risco de CM varia de 65% a 81% e de 45% a 85% nas mulheres portadoras de mutação nos genes BRCA1 e BRCA2, respetivamente (Antoniou et al., 2003; Sun *et al.*, 2017).

1.2.3 Sintomatologia

Apesar da presença de um nódulo mamário ser um dos sintomas mais descritos pelas mulheres diagnosticadas, 1 em cada 6 mulheres experiencia diversos outros sintomas, que se podem expressar através:

- Alteração do tamanho, forma ou consistência da(s) mama(s);
- Alterações na pele (aparência de pele “casca de laranja”);
- Alterações no mamilo (por exemplo retração do mamilo);
- Excreção de líquido do mamilo;
- Dor mamária ou no mamilo;
- Infeção ou inflamação mamária;
- Inchaço anormal;
- Vermelhidão ou espessamento da pele do mamilo ou da mama.

Os nódulos, tanto podem estar localizados na mama como perto da axila e, habitualmente, são indolores, embora também possam ser dolorosos. É importante ter

em consideração que uma mulher pode manifestar alguns destes sintomas e não se tratar de CM, de qualquer forma deve sempre recorrer ao médico para que lhe seja feito um diagnóstico correto ou o despiste da doença (Koo *et al.*, 2017; National Cancer society, 2017; NHS Scotland, 2015).

1.2.4 Estadiamento

O estadiamento, tem como objetivo avaliar a extensão do tumor local e regional, de forma a estimar um prognóstico com base nas características específicas do doente e do tipo de cancro em questão, facilitando assim as deliberações relativamente ao tipo de tratamento a realizar (ACF, 2013; Direção-Geral da Saúde., s.d.).

A classificação utilizada para a avaliação do estadiamento é designada de TNM, em que T – designa a dimensão do tumor primário, N – atingimento dos gânglios linfáticos (número e/ou local) e M – metástases, se o tumor já se alastrou ou não para outros órgãos do corpo (Cserni, Chmielik, Cserni, & Tot, 2018). O processo de classificação TNM encontra-se descrito no anexo I.

Para além do mencionado e tendo por base a classificação TNM descrita em anexo, os estádios podem ser agrupados como mostra a tabela 2.

Tabela 2: Estadiamento do cancro da mama tendo por base a classificação TNM, segundo a 7ª edição do AJCC. Tis – Carcinoma ductal *in situ*, carcinoma lobular *in situ* e doença de Paget; T0 – Sem evidência de tumor primário; T1 – Tumor com 2 cm ou inferior; T2 – Tumor superior a 2 cm mas inferior a 5 cm; T3 – Tumor superior a 5 cm; N0 – Sem evidência de metástases nos gânglios linfáticos regionais; N1mi – Micrometástases nos gânglios linfáticos sob o braço, não superiores a 2 mm ; N1 – Metástase nos gânglios linfáticos axilares homolaterais móveis nível I e II ; N2 - Metástase nos gânglios linfáticos axilares homolaterais; M0 – Sem evidência de metástases à distância (adaptada de Ozsaran & Alanyah, 2013).

Estádios	T	N	M
<i>Estadio 0</i>	Tis	N0	M0
<i>Estadio IA</i>	T1	N0	M0
<i>Estadio IB</i>	T0-T1	N1mi	M0

<i>Estadio IIA</i>	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<i>Estadio IIB</i>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<i>Estadio IIIA</i>	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
<i>Estadio IIIB</i>	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
<i>Estadio IIIC</i>	Qualquer T	N3	M0
<i>Estadio IV</i>	Qualquer T	Qualquer N	M1

1.2.5 Tipos de Cancro da Mama

A elevada heterogeneidade clínica, biológica e morfológica do CM, faz dela uma doença de grande complexidade. Apesar de os aspetos clínicos e histológicos de tumores malignos da mama poderem ser semelhantes o prognóstico e as respostas à terapêutica podem ser distintas (Cirqueira, Moreira, Soares, & Freitas-Júnior, 2011).

Como já referido anteriormente, a mama é constituída por lóbulos e ductos, sendo que a primeira distinção dos diversos tipos de cancro da mama passa pela abrangência ou não do tumor a estas duas estruturas. Quando o tumor está presente nos lóbulos e nos ductos, mas não ultrapassa a membrana, o tumor diz-se não invasivo, ou

in situ. Por outro lado, caso o tumor consiga alastrar-se para além da membrana dos ductos e dos lóbulos, é classificado como invasivo (NCCN, 2011).

No carcinoma *in situ*, é possível identificar 3 tipos distintos: o carcinoma ductal *in situ* (CDIS), o carcinoma lobular *in situ* (CLIS) e não tão comum, correspondendo a 1-3% dos cancros da mama, é a doença de Paget (Sandoval-Leon, Drews-Elger, Gomez-Fernandez, Yepes, & Lippman, 2013; Ward *et al.*, 2015).

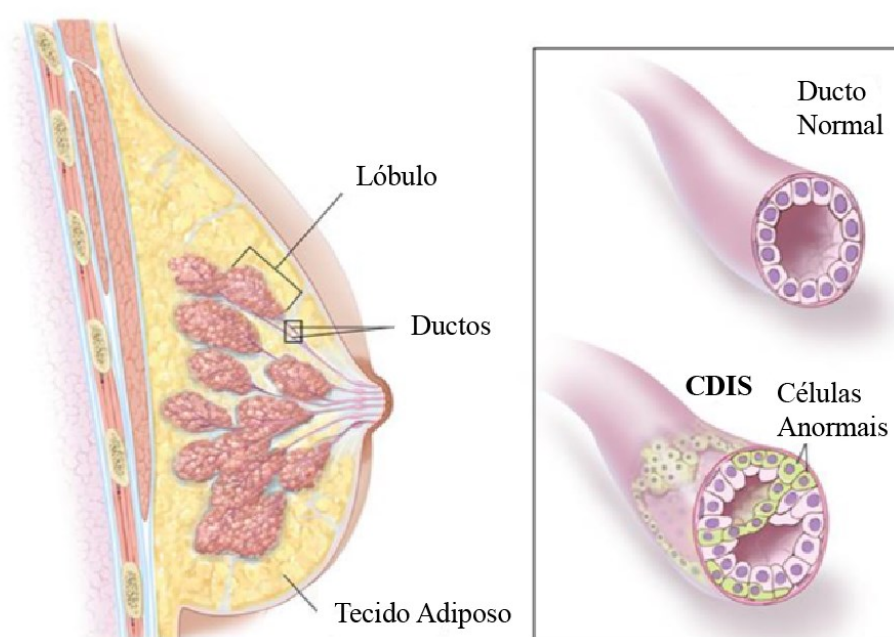


Figura 7: Carcinoma ductal in situ (CDIS) (adaptada de *National Cancer Institute*).

O carcinoma ductal *in situ*, ou cancro da mama correspondente ao estadio 0, é caracteriza-se por ser uma condição não invasiva em que as células dos ductos mamários se transformam em células cancerígenas, mas que ainda não ultrapassaram as paredes dos ductos, não havendo invasão dos tecidos vizinhos (ver figura 7). No entanto, este tipo de CM pode tornar-se invasivo, metastizando para outros tecidos (Carraro, Elias, & Andrade, 2014; Duggal, S., Robin, J., & Julian, 2013).

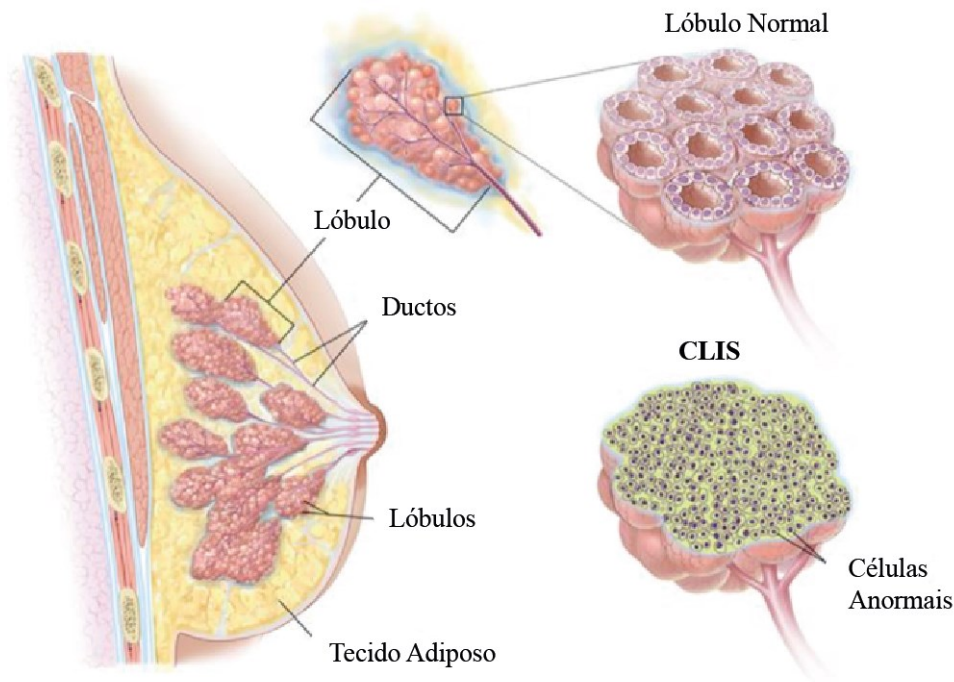


Figura 8: Carcinoma lobular in situ (CLIS) (adaptada de *National Cancer Institute*).

No carcinoma lobular *in situ*, as células cancerígenas desenvolvem-se nos lóbulos das glândulas produtoras de leite, e não apenas nas paredes dos lóbulos, como se pode observar na Figura 8. O CLIS não é considerado cancro daí muitas vezes ser designado de neoplasia, isto porque numa neoplasia ocorre um crescimento descontrolado das células, formando-se uma massa de tecido anormal que pode ser benigna ou maligna, caso seja maligna é então designada de tumor (NCI, s.d.). Este tipo de neoplasia é indicativo de risco acrescido de vir a desenvolver CM (Venkitaraman, 2010).

O carcinoma invasivo da mama também se pode dividir em carcinoma ductal invasivo (CDI) e em carcinoma lobular invasivo (CLI). O CDI é o tipo de carcinoma mais comum da mama, que ocorre quando as células malignas conseguem ultrapassar a parede dos ductos, alastrando-se para os tecidos próximos, podendo metastizar para outras partes do corpo. O CLI tem origem nas glândulas produtoras de leite e, tal como o carcinoma ductal invasivo pode metastizar para outras partes do corpo, no entanto, a sua deteção é mais difícil (Dossus & Benusiglio, 2015; Rakha *et al.*, 2008).



Figura 9: Cancro da mama inflamatório, com aspeto casca de laranja e mamilo invertido (retirada de *National Cancer Institute*).

Outro tipo menos comum de cancro da mama é o cancro de mama inflamatório (CMI). Este tipo de CM, difere dos restantes devido aos seus sintomas, provocados pela obstrução dos vasos linfáticos na pele, que incluem inchaço na mama, vermelhidão e aspeto casca de laranja, como representado na figura 9. O CMI corresponde a cerca de 2,5% de todos os cancros da mama, sendo este o tipo com maior agressividade (van Uden, van Laarhoven, Westenberg, de Wilt, & Blanken-Peeters, 2015)

O CMI pode ser de estadio IIIB, IIIC e IV. A maior parte dos carcinomas da mama inflamatórios começam no estadio IIIB, que envolve a pele, no estadio IIIC os gânglios linfáticos já se encontram afetados e, por fim, no estadio IV o tumor maligno já se tenha propagado para fora da mama e para os gânglios linfáticos vizinhos (National Cancer Institute, s.d.)

Existem também outros subtipos de cancro da mama de acordo com as características histoquímicas. Desta forma, é possível categorizar o CM em 4 grupos distintos: recetor de estrogénio (RE), recetor de progesterona (RP), fator de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2) e triplo negativo (Onitilo, Engel, Greenlee, & Mukesh, 2009).

Quando as células do tumor maligno na mama possuírem recetores de estrogénio o tumor é designado de RE+, ou seja, o recetor de estrogénio é positivo. O mesmo

acontece em relação ao recetor de progesterona, quando o tumor apresenta recetores de progesterona, o tumor é denominado RP+. A determinação da presença destes recetores hormonais é de extrema importância, pois possibilita uma melhor adequação do tratamento, evitando que o cancro continue a crescer e se dissemine (Breast Cancer Society, 2017).

A sobre-expressão do recetor HER2 é uma das principais características associadas ao crescimento e progressão do tumor maligno da mama, presente em 15% a 20% dos CM (Krishnamurti & Silverman, 2014). Desta forma, o HER2+ é indicativo de que as células cancerígenas apresentam uma expressão anormal de HER2 e os doentes que apresentam este tipo de CM têm pior prognóstico, relativamente aos doentes que não apresentam amplificação desta proteína (Cirqueira *et al.*, 2011; Vuong, Simpson, Green, Cummings, & Lakhani, 2014).

Por último, o subtipo de cancro da mama triplo negativo é caracterizado por apresentar os recetores RE e PR negativos e o HER2 também negativo, representando 10% a 15% dos tumores malignos da mama e afetando principalmente doentes mais jovens (Lehmann *et al.*, 2011). Consequentemente, os doentes com este tipo de CM, geralmente apresentam tumores biologicamente mais agressivos, de maiores dimensões, com envolvimento dos gânglios linfáticos no seu diagnóstico, maior taxa de recorrência e um pior prognóstico, comparativamente com os outros subtipos de CM (Dent *et al.*, 2007; Haffty *et al.*, 2006).

2. Carcinogénese do Cancro da Mama

As neoplasias podem ser distinguidas em benignas ou malignas, consoante as suas características. As neoplasias benignas são caracterizadas por apresentarem um crescimento organizado, lento e com limites definidos, em que as células não possuem a capacidade de invadir os tecidos circundantes. Contrariamente, as neoplasias malignas caracterizam-se pelo crescimento desorganizado, com células com capacidade de se difundirem pelos tecidos vizinhos, podendo originar metástases (Rodrigues, Silva, & Cardoso, 2016).

Desta forma, as neoplasias malignas são consideradas doenças crónicas, graves em termos de saúde pública, devido às suas características de mortalidade, incidência e prevalência, que acarretam muitos gastos e consequências para os doentes (Lourdes *et al.*, 2015).

Como já referido anteriormente, o CM é das neoplasias mais comuns entre as mulheres, sobretudo na faixa etária entre os 40 e os 60 anos de idade. No entanto, o sexo feminino não é o único género afetado, os homens também podem vir a sofrer de CM, representando 1% de todas as neoplasias da mama (Stuckey, 2011; Zurrida *et al.*, 2010).

A carcinogénese é um processo complexo que origina múltiplas alterações genéticas, que se desenvolve em diversas fases e que vai originar o tumor maligno. Este processo, com diversas etapas e que vai influenciar o crescimento e a divisão das células, pode levar anos até que os sinais e sintomas sejam detetados (Osborne, Wilson, & Tripathy, 2004; Rodrigues *et al.*, 2016).

O mecanismo da carcinogénese é caracterizado por mutações genéticas, que podem ser herdadas ou adquiridas através de agentes carcinogéneos, podendo estes ser ambientais, hormonais, químicos, virais e radioativos. Desta forma, o processo da carcinogénese pode ocorrer de forma espontânea ou devido aos agentes referidos. Para que este mecanismo se inicie, os proto oncogenes, os genes supressores de tumores e os genes responsáveis pela apoptose terão de sofrer alterações genéticas (Rodrigues *et al.*, 2016; Silva, Serakides, & Cassali, 2004).

Os proto oncogenes, são genes que têm como função regular e promover o crescimento, a divisão e a diferenciação controlada das células. No entanto, quando estes sofrem uma mutação ou quando ocorre um descontrolo na expressão dos genes, os

genes transformam-se em oncogenes, porque codificam proteínas que vão provocar a multiplicação descontrolada das células (Silva *et al.*, 2004).

Assim, as mutações genéticas conhecidas e associadas ao cancro da mama são essencialmente mutações nos oncogenes, como por exemplo ErbB2, MYC e o PIK3CA, e nos genes supressores de tumor, tais como o TP53, BRCA1/2, RB1 e PTEN (Perera & Bardeesy, 2012).

3. Biomarcadores no Cancro da Mama

Atualmente, os biomarcadores na gestão dos doentes com CM é indispensável porque fornecem informação imprescindível para o diagnóstico, prognóstico, terapêutica e epidemiologia bem como para a realização de ensaios clínicos. Devido aos biomarcadores é possível aumentar consideravelmente a eficácia do tratamento e da deteção do cancro da mama (M. J. Duffy *et al.*, 2017; Wahid, 2017).

Os efeitos tóxicos do sobretratamento e/ou dos tratamentos incorretos tem de ser evitado, bem como a falta de tratamento dos doentes. Assim, é de extrema importância que sejam definidas propriedades específicas, que permitam um tratamento individual otimizado, que permite um aumento da qualidade de vida durante o período de tratamento e de doença (Kutomi *et al.*, 2017; Weigel & Dowsett, 2010).

3.1 Testes Moleculares para o Prognóstico de Cancro da Mama

Os biomarcadores têm sido utilizados para a criação de testes moleculares de prognóstico de cancro de mama que podem fornecer informações relativas ao prognóstico, mas também podem antever a resposta à terapêutica. Na última década, vários novos testes foram propostos para o prognóstico do cancro da mama e já se encontram em comercialização em muitos países, entre eles o Oncotype DX, MammaPrint e uPA/PAI-1 (Nicolini, Ferrari, & Duffy, 2017).

3.1.1 Oncotype DX

Este teste permite medir a expressão de 21 genes, em que 16 desses genes estão relacionados com o cancro e os restantes 5 são utilizados como genes de controlo. Tendo em conta o referido, com base na expressão dos 16 genes e dos 5 de referência, foi desenvolvida uma pontuação designada de índice de recorrência (RS). Desta forma, é possível distinguir três subgrupos para os diferentes riscos calculados de recorrência da

doença, isto é, baixo risco (<18), risco intermédio ($18-30$) e alto risco (≥ 30) (Nicolini et al., 2017).

O Oncotype DX tem sido descrito como um teste que permite não só mensurar a probabilidade de um doente vir a ter uma recidiva de CM num período de 10 anos, como também podem ser usados para identificar doentes que poderão beneficiar de quimioterapia adjuvante (M. J. Duffy *et al.*, 2017; Paik *et al.*, 2006)

3.1.2 MammaPrint

O biomarcador MammaPrint é também utilizado para prever a probabilidade de recidiva da doença e auxiliar na opção de tratamento mais adequada para o doente. Para tal, é efetuada uma avaliação com base em “microarrays” de DNA que permitem medir a expressão de 70 genes. A partir da expressão destes genes, é possível distinguir dois grupos de doentes, os de elevado risco e os de baixo risco de recidiva da doença (Knauer *et al.*, 2010; Saghatchian *et al.*, 2013)

O estudo MINDACT, realizado com o objetivo de evidenciar a utilidade deste teste, permitiu concluir que após o seguimento dos doentes com cancro da mama invasivo durante 5 anos, a aplicação do teste MammaPrint possibilitou categorizar os doentes de forma diferente da efetuada por métodos clínicos tradicionais, o que permitiu uma diminuição de cerca de 14% da frequência de utilização de quimioterapia adjuvante, sem comprometer a sobrevida dos doentes, livres de metástases (Fatima Cardoso *et al.*, 2016).

3.1.3 uPA e PAI-1

O plasminogénio do tipo uroquinase (uPA) e o seu inibidor PAI-1, são dois biomarcadores relevantes no que diz respeito aos mecanismos de invasão e metástases do cancro, bem como na adesão, migração e proliferação das células (Kutomi *et al.*, 2017).

A medição da expressão destas duas proteínas, tem permitido obter informações importantes relativas ao prognóstico de CM e auxiliar na escolha da terapêutica mais

adequada, concretamente nos doentes que apresentam CM sem envolvimento dos gânglios linfáticos (Harbeck *et al.*, 2013; Jacobs *et al.*, 2013).

A avaliação com base no uPA/PAI-1 permite diminuir a quimioterapia adjuvante nos doentes que apresentavam cancro da mama sem envolvimento dos gânglios linfáticos, dado que este estudo permite concluir que apenas os doentes que apresentavam níveis elevados das duas proteínas e que têm pior prognóstico podem beneficiar da quimioterapia adjuvante (Michael J. Duffy, O'Donovan, McDermott, & Crown, 2016; Nicolini *et al.*, 2017).

3.1.2 Outros Testes Moleculares com Biomarcadores

O teste Prosigna e o EndoPredict, são também dois testes que utilizam biomarcadores com interesse para o prognóstico do cancro da mama e, com grande importância na tomada de decisão relativamente à quimioterapia adjuvante em mulheres com cancro da mama RE positivo e HER2 negativo, com envolvimento dos gânglios linfáticos (M. J. Duffy *et al.*, 2017; Gnant *et al.*, 2015).

O teste Prosigna permite fazer a medição da expressão de 50 genes, ao nível do mRNA, possibilitando o cálculo do risco de recaída de CM, de 0 a 100, classificando os doentes em baixo risco (0-40), risco intermédio (41-60) e risco elevado (61-100). Para além disso, o teste Prosigna permite também categorizar o CM em subtipos, dando informações relevantes, contribuindo para o prognóstico e previsão do benefício que um doente terá com o tratamento (M. J. Duffy *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2015).

O EndoPredict é um teste que permite avaliar a expressão de 11 genes, 3 genes de referência e 8 genes de teste, possibilitando a medição do risco de recorrência em doentes com CM em estadios iniciais, RE positivo e HER negativo, que foram tratados apenas com terapia endócrina adjuvante (M. J. Duffy *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2014)

Desta forma, a partir do teste EndoPredict, em associação com a avaliação da condição dos gânglios linfáticos do doente e do tamanho do tumor, é calculado um risco (EPclin) que permite especificar quais os grupos de risco de recorrência de CM entre 5 a 10 anos. Deste modo, os doentes pertencentes ao grupo de baixo risco pelo EPclin, apresentam um risco de recorrência em 10 anos de 4%, recebendo apenas terapia

endócrina adjuvante. Em contraste, um estudo realizado com doentes considerados de alto risco pelo EPclin indica que a terapia endócrina adjuvante sozinha pode não ser suficiente, havendo necessidade de alteração do tratamento (Filipits *et al.*, 2011).

4. Tratamento do Cancro da Mama

4.1 Terapêutica Adjuvante

Apesar da incidência de CM aumentar de ano para ano, a deteção precoce e a individualização do tratamento têm permitido aumentar significativamente a taxa de sobrevivência dos doentes, melhorando a sua qualidade de vida. O tratamento adjuvante é uma chave importante para o sucesso dos doentes oncológicos, reduzindo o risco de recidiva de CM e melhorando a SLD e a SG. A terapêutica adjuvante é instituída nos doentes após a cirurgia do CM e está estruturada em tratamento local (radioterapia) e tratamento sistémico (terapia endócrina, biológica e quimioterapia) (Flatley & Dodwell, 2016).

Após uma cirurgia conservadora da mama ou uma mastectomia, a **radioterapia** tem como objetivo eliminar os resíduos cancerígenos que permaneceram mesmo após a intervenção. Deste modo, é possível diferenciar dois tipos de radioterapia, a externa que, como o próprio nome indica, provém de uma fonte que se encontra no exterior do corpo, e a interna, designada de braquiterapia, em que a fonte radioativa é colocada no interior do corpo, por um período de tempo definido (American Cancer Society, 2017; Hennequin *et al.*, 2016).

Uma meta análise realizada pelo *Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)* demonstrou, com base em 17 estudos clínicos randomizados, que a radioterapia como terapia adjuvante apresenta inúmeras vantagens para os doentes comparativamente com a cirurgia isolada, diminuindo as taxas de recidiva do CM. Este estudo permitiu também concluir que, após a cirurgia conservadora da mama nos doentes com cancro do tipo invasivo e após a cirurgia do carcinoma ductal *in situ* de grau elevado, a radioterapia total da mama é considerada a primeira linha de tratamento adjuvante. No entanto, esta terapia não se mostrou eficaz nos casos em que o CDIS é considerado de baixo grau e de pequeno volume (Darby *et al.*, 2011; Flatley & Dodwell, 2016; Sekiguchi *et al.*, 2015).

Outros estudos também demonstraram que a radioterapia, após a mastectomia, possibilita a diminuição da taxa de recidiva local e regional, aumentando também a sobrevida dos doentes. Deste modo, a radioterapia também é considerada vantajosa para

os doentes que apresentem um tumor maligno com mais de 5 cm, 4 ou mais gânglios linfáticos afetados ou invasão linfovascular extensa (Cihan & Sarigoz, 2016).

Relativamente à **terapêutica sistémica**, para ser instituída é necessário ter em conta diversos fatores que também são utilizados para prognóstico, tais como, o estadio da doença, tamanho do tumor, estado dos gânglios linfáticos e a biologia do cancro mamário. A expressão dos recetores RE e HER2 é fulcral para a previsão da resposta à terapêutica endócrina e anti-HER2 (Chew, 2001; Emanuel Rubini Liedke, 2006).

A grande maioria dos cancros da mama depende dos recetores de estrogénio, correspondendo a cerca de 60% a 80% dos casos. A interrupção da sinalização desencadeada pela ligação entre o recetor, RE, e o ligando Estrogénio, demonstrou ser eficaz na redução do risco de recidiva do CM. Assim, a **terapia endócrina** consiste em reduzir a produção do estrogénio, quer através da supressão/ablação (ooforectomia) do ovário e da terapêutica com inibidores da aromatase quer através da terapêutica com tamoxifeno, que vai interferir na formação do complexo Recetor de Estrogénio/Estrogénio (Flatley & Dodwell, 2016).

A inibição da divisão das células cancerígenas pelo tamoxifeno, que é um modulador seletivo do recetor de estrogénio (MRE), tem como mecanismo de ação, a competição com o Estrogénio para a ligação a uma das regiões de ativação do recetor. Deste modo, vai impedir a deslocação do recetor para o núcleo e consequente ativação da expressão de vários genes necessários para o desenrolar do ciclo celular (Flatley & Dodwell, 2016; Nazarali & Narod, 2014).

O tamoxifeno mostrou ser eficaz tanto em mulheres na pré-menopausa como nas mulheres após a menopausa, com CM sensível às hormonas, ou seja, RE positivo. A partir de uma meta análise foi possível concluir que a terapia adjuvante com tamoxifeno durante 5 anos permite reduzir o risco de recidiva em 10 anos e o risco de mortalidade, em 47% e 26%, respetivamente. Para além disso, a terapia com tamoxifeno não evidenciou nenhum benefício nas mulheres com tumor maligno na mama RE negativo, não devendo ser considerado como método de tratamento (Chew, 2001; Emanuel Rubini Liedke, 2006; Nazarali & Narod, 2014).

Em acréscimo, a duração do tratamento com tamoxifeno mostrou ser mais eficaz em longos períodos de administração comparativamente com períodos mais curtos. Assim, o tratamento durante 5 anos apresentou mais benefícios na diminuição do risco

de recorrência do que o tratamento por 1 ou 2 anos, e o prolongamento do tratamento por 10 anos apresentou ainda mais efeitos na redução do risco de recorrência e de mortalidade (Davies *et al.*, 2013; *Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group* (EBCTCG), 2005).

Os inibidores da aromatase (IA) reduzem a produção de estrogénio tendo até efeitos menos tóxicos, no entanto, a inibição da aromatase pelos IA não tem efeito ao nível do ovário, e por isso apenas as mulheres que não tem ovários funcionais podem beneficiar deste tipo de terapêutica (Altundag & Ibrahim, 2006).

A **quimioterapia** adjuvante reduz o risco de recorrência e de mortalidade do cancro da mama em 23% e 17%, respetivamente. Estes benefícios observados variam consoante a idade do doente e o tipo de CM, daí a existência de diversos regimes e protocolos de quimioterapia (Flatley & Dodwell, 2016).

O regime FEC (fluoruracilo, epirrubicina e ciclofosfamida) à base de antraciclina comparativamente com outros regimes mais antigos, como por exemplo, CMF (ciclofosfamida, metotrexato e fluoruracilo), tem permitido uma redução significativamente maior do risco de recidiva e de mortalidade do CM. Estes regimes têm como objetivo atacar as células cancerígenas que possam permanecer mesmo após cirurgia ou até as que se tenham alastrado para outras partes do corpo, mas que não tenham sido detetadas mesmo com o recurso aos exames imagiológicos (American Cancer Society, 2017; Flatley & Dodwell, 2016). Por sua vez, a ciclofosfamida é um agente alquilante, o fluoruracilo e o metotrexato são fármacos antimetabólicos e a epirrubicina um agente antracíclico (Rodrigues *et al.*, 2016).

Guidelines da NICE (*The National Institute for Health and Care Excellence*) autorizaram o uso do docetaxel na quimioterapia adjuvante, em mulheres que apresentam gânglios linfáticos positivos, cujo risco de metastização e de recorrência é bastante elevado (National Institute for Health and Care Excellence, 2009).

Deste modo, os principais fármacos utilizados na quimioterapia, quer adjuvante quer neoadjuvante, são as antraciclina (como a doxorrubicina e a epirrubicina), taxanos (como o paclitaxel e o docetaxel), 5-fluoruracilo, ciclofosfamidas e a carboplatina (American Cancer Society, 2017; Anampa, Makower, & Sparano, 2015). Os taxanos atuam ao nível da inibição do crescimento, diferenciação e proliferação das células cancerígenas, enquanto que as antraciclina são antibióticos anti tumorais que

interferem com a replicação, transcrição e reparação do DNA e que inibem a ação do enzima topoisomerase II, elemento chave na replicação do DNA (Luiza *et al.*, 2014).

A terapia biológica, por sua vez, visa melhorar os mecanismos de defesa contra as células cancerígenas, impedir os mecanismos moleculares responsáveis pela carcinogénese e modificar os fenótipos resistentes aos fármacos. Assim, a terapia biológica no contexto adjuvante, possibilitará uma terapêutica dirigida a vias moleculares específicas poupando os doentes à exposição a agentes inativos, melhorando assim o índice terapêutico (Craft, Hortobagyi, & Moulder, 2007).

Mulheres que apresentem CM HER2+ têm, tendencialmente, pior prognóstico pois este tipo de tumor maligno progride de forma muito rápida e agressiva. Assim, visto que as outras terapias não são eficazes neste tipo de CM a terapêutica dirigida, também designada de terapia biológica, é utilizada preferencialmente nas mulheres com CM HER2+. Deste modo, os agentes biológicos principais são o trastuzumab, o pertuzumab e o neratinib. O trastuzumab é um anticorpo monoclonal que se liga ao recetor HER2, bloqueando-o. Por sua vez, o pertuzumab é também um anticorpo monoclonal, no entanto, liga-se a um epítipo diferente do trastuzumab no domínio extracelular do HER2, esta ligação do pertuzumab ao recetor HER2 vai impedir a dimerização com outros recetores HER. Por último, o neratinib é um inibidor irreversível de pequenas moléculas de tirosina cinase, que inibe a sinalização do recetor HER2 (American Cancer Society, 2017; Martin *et al.*, 2017).

Por conseguinte, a terapia biológica pode ser utilizada em combinação com outros agentes, nomeadamente os quimioterápicos, por forma a superar a resistência a fármacos e aprimorar a atividade da quimioterapia tradicional. A terapia biológica demonstrou eficácia quer no tratamento adjuvante do CM, quer ao nível do tratamento do cancro da mama avançado, como será retratado mais adiante. (Buzdar, 2009; Craft *et al.*, 2007).

4.2 Terapêutica Neoadjuvante

A terapêutica neoadjuvante diz respeito à terapia que é instituída ao doente antes de ser efetuada a cirurgia. A importância da terapêutica neoadjuvante reside, essencialmente, no facto de possibilitar que o tumor maligno da mama reduza a sua

gravidade, permitindo que a cirurgia não seja tão extensa e agressiva para os doentes além de facilitar a avaliação da resposta do cancro ao tratamento (Grossman, Ma, & Aft, 2018; Lux *et al.*, 2017).

Inicialmente, a Terapêutica Endócrina Neoadjuvante (TEN) era limitada às mulheres mais velhas após a menopausa, que apresentavam tumores de grandes dimensões e que não eram consideradas candidatas adequadas, quer para a quimioterapia neoadjuvante (TQN) quer para cirurgia. No entanto, com o desenvolvimento de IA cada vez mais eficazes e com a capacidade de identificar mais precocemente a resposta endócrina, foi possível alargar a área de atuação da TEN (Grossman *et al.*, 2018). As mulheres com CM RE positivo são as candidatas mais apropriadas para receberem TEN.

Por outro lado, a TQN é mais utilizada em doentes com CM operável que apresentam os seguintes fatores: gânglios linfáticos positivos, grande volume de tumor maligno, idade mais jovem e as características biológicas do cancro (grau elevado, HER2 positivo, recetores hormonais negativos e CM triplo negativo) (Cain *et al.*, 2017).

Como referido anteriormente, a terapia sistémica neoadjuvante é bastante vantajosa, por permitir a diminuição do grau e do estadió de tumores de grandes dimensões, tornando os inoperáveis em operáveis e possibilitando mais cirurgias conservadoras da mama e não tão extensas (Charehbili *et al.*, 2014; Vaidya *et al.*, 2017).

Por conseguinte, vários estudos foram realizados com o objetivo de avaliar as vantagens deste tipo de tratamento sistémico, comparando a terapia endócrina com a quimioterapia antes de qualquer intervenção cirúrgica. Assim, houve evidência que a TEN e a TQN apresentaram taxas de resposta bastante semelhantes, sendo as duas efetivas. Na tabela 3 é possível verificar os resultados da resposta às diferentes terapias, endócrina e quimioterapia, com base em 3 estudos. A toxicidade foi superior na quimioterapia, no entanto, apesar de ambas as terapêuticas mostrarem ser eficazes, o tratamento do CM é multifatorial, variando de doente para doente (Charehbili *et al.*, 2014; Grossman *et al.*, 2018; Semiglazov *et al.*, 2007).

Tabela 3: Terapia endócrina neoadjuvante versus quimioterapia neoadjuvante (adaptada de Grossman *et al.*, 2018)

<i>Fonte</i>	Nº de mulheres	Caraterísticas do Doente	Quimioterapia	Terapêutica Endócrina	Resposta	Taxa de Cirurgia do CM
Semiglazon <i>et al.</i> , 2007	239	RE+ e/ou RP+ pós-menopausa, estadio IIA a IIIB	Doxorrubicina + paclitaxel x 4 ciclos	Anastrozole ou exemestano x 12 semanas	64% quimioterapia Vs 64% endócrina	24% quimioterapia Vs 33% endócrina
Alba <i>et al.</i> , 2012 (GEICAM)	95	51% pré-menopausa RE+/RP+/HER2-	Epirrubicina +ciclofosfamida x 4 ciclos, seguido de docetaxel x 4 ciclos	Exemestano (+ goseralina se pré - menopausa) x 24 semanas	66% quimioterapia Vs 48% endócrina	47% quimioterapia Vs 56% endócrina
Palmieri <i>et al.</i> , 2014 (NEOCENT)	44	Pós-menopausa RE+	5-fluorouracilo + epirrubicina + ciclofosfamida x 6 ciclos, alterando para docetaxel após 3 ciclos se a doença estiver estável ou doença progressiva	Letrozole x 18 semanas	55% quimioterapia Vs 59% endócrina	55% quimioterapia Vs 68% endócrina

Nos 3 estudos acima apresentados as taxas de resposta foram semelhantes em ambas as terapêuticas, não havendo variações muito significativas. No estudo de Semiglazon *et al.* (2007), a terapêutica endócrina com IA foi mais bem tolerada, no entanto, as taxas de resposta e da cirurgia conservadora da mama, foram semelhantes nas mulheres após a menopausa com câncer de mama RE+ e RP+ (Grossman *et al.*, 2018). Encontra-se ilustrado uma representação da resposta parcial e total dos tumores ao tratamento, usando a mamografia (ver figura 10).

Os IA também apresentaram uma eficácia superior ao tamoxifeno e por isso favorecerem a cirurgia conservadora da mama, quando usados antes da cirurgia durante 3 a 4 meses (Abrial *et al.*, 2006; Semiglazov *et al.*, 2007).

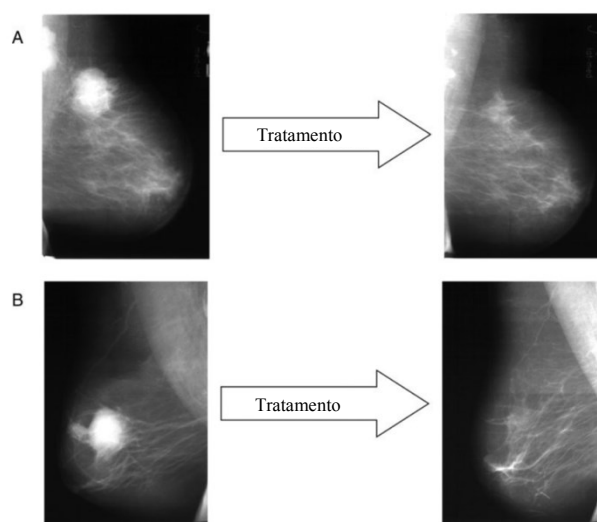


Figura 10: Representação da resposta dos tumores ao tratamento, por mamografia. A – Parcial, B – Total (adaptada de Semiglazov, 2007).

No estudo de Palmieri *et al.* (2014), foram avaliadas 44 mulheres na pós-menopausa, com menos de 70 anos de idade que apresentavam tumores RE positivos, superiores a 2 cm detectados por ultrassom ou mamografia (Grossman *et al.*, 2018; Palmieri *et al.*, 2014). Este estudo permitiu concluir que tanto a TEN como a TQN são bastante eficazes no tratamento de CM RE+, mostrando que a TEN pode ser uma alternativa interessante no tratamento deste tipo de tumor maligno da mama (Palmieri *et al.*, 2014).

Por conseguinte, a terapia neoadjuvante não tem como objetivo substituir a terapia adjuvante, mas sim atuar como uma alternativa para mulheres que apresentam

CM palpáveis que necessitem de mastectomia, diminuindo a área do tumor e o seu grau, favorecendo a cirurgia conservadora da mama (Abrial *et al.*, 2006; Semiglazov *et al.*, 2007).

Para além disso, a terapia neoadjuvante permite também avaliar a sensibilidade do tumor ao tratamento, funcionando como um teste *in vivo*. Logo, uma falência no tratamento pré-operatório pode prever a resposta, desse mesmo tratamento quando administrado após a cirurgia (Semiglazov *et al.*, 2007; Vaidya *et al.*, 2017).

4.3 Terapêutica do Cancro da Mama Metastizado

O cancro da mama metastizado (CMM) é considerado incurável, pelo que o objetivo do seu tratamento passa principalmente pela palição, por forma a melhorar a qualidade de vida dos doentes e, se possível, prolongar a sobrevivência. Deste modo, o tratamento sistémico para o CMM apresenta como opções a terapia endócrina, a quimioterapia e a terapia biológica com agentes biológicos (F. Cardoso, Harbeck, Fallowfield, Kyriakides, & Senkus, 2012).

Os agentes citotóxicos são utilizados, principalmente, em primeira linha nos CMM triplo negativos. Neste âmbito, os taxanos são a melhor escolha para o tratamento inicial, dado que se evidenciaram mais eficazes que as antraciclinas. No entanto, também podem ser utilizados em CMM recetores hormonais positivos (RH+), em situações em que os tumores são rapidamente progressivos, quando o tumor já se encontra bastante extenso nos órgãos e em mulheres que apresentem resistência à terapia endócrina. É de salientar que à exceção destes casos, a terapia endócrina apresenta melhores resultados, sendo o tratamento preferencial para CM RH+ (Andreopoulou & Sparano, 2013; Castro, 2016).

O gene HER2 encontra-se amplificado em 25% a 30% dos casos de CM, estando a sua excessiva expressão relacionada com CM agressivos. Neste contexto, o tratamento endócrino em associação com a quimioterapia, demonstrou ser mais eficaz, apresentando uma taxa de resposta global significativamente superior, melhorando a sobrevida em comparação com a quimioterapia usada isoladamente (Slamon *et al.*, 2001).

Os citotóxicos, como o próprio nome indica, apresentam toxicidade. Assim, a quimioterapia é limitada e só se usa enquanto for visível progressão favorável da patologia ou até ao limite de toxicidade aceitável, sendo inevitável que emergjam resistências à terapêutica. Nestas situações, é realizada uma avaliação e as terapêuticas de segunda linha devem ser consideradas, isoladas ou em combinação, consoante as necessidades do doente. Como terapêutica de segunda linha, estão aprovados formalmente, para a terapia do CMM previamente exposto a antraciclinas e taxanos, três agentes citotóxicos, nomeadamente: capecitabina, ixabepilone e o mesilato de eribulina (Andreopoulou & Sparano, 2013; Castro, 2016).

Havendo evidência no tumor maligno da mama, por biópsia, de recetores hormonais positivos, o tratamento preferencial é a terapêutica endócrina (F. Cardoso *et al.*, 2012). Assim sendo, é possível identificar três classes principais de fármacos envolvidos na terapêutica endócrina: os IA, os MRE e os antagonistas dos recetores de estrogénios (ARE) (Reinert & Barrios, 2015).

O tamoxifeno é o MRE considerado *standart* no tratamento do CMM metastizado RE+, apresentando eficácia e um perfil de toxicidade favorável. No entanto, diversos estudos mostraram que os IA, apresentaram uma taxa de sobrevivência superior ao tamoxifeno. Os principais IA utilizados são os não-esteroides, anastrozol e letrozol, que se ligam de forma reversível à aromatase e o exemestano que é um IA esteroide com ligação irreversível. Os ARE, nomeadamente o fulvestrant permite bloquear a dimerização do RE e a sua ligação ao DNA. Assim, ocorre inibição da absorção nuclear e aumenta a degradação do RE que, por sua vez, leva à inibição da sinalização de estrogénios (Reinert & Barrios, 2015; Robertson *et al.*, 2003).

Por fim, a terapêutica biológica tem como objetivo atuar ao nível de um alvo molecular específico. Apesar das suas inúmeras aplicações, um exemplo do referido é a terapia anti-HER2, primeira linha no tratamento de CM HER2+ que, em associação à terapia endócrina e à quimioterapia, pode apresentar ainda mais benefícios quando conjugados com a terapia dirigida. Neste contexto, o trastuzumab é o anticorpo monoclonal mais utilizado, que está dirigido ao subdomínio extracelular IV bloqueando a homodimerização da proteína HER2 (Castro, 2016; Giordano *et al.*, 2014; Jiang & Rugo, 2015).

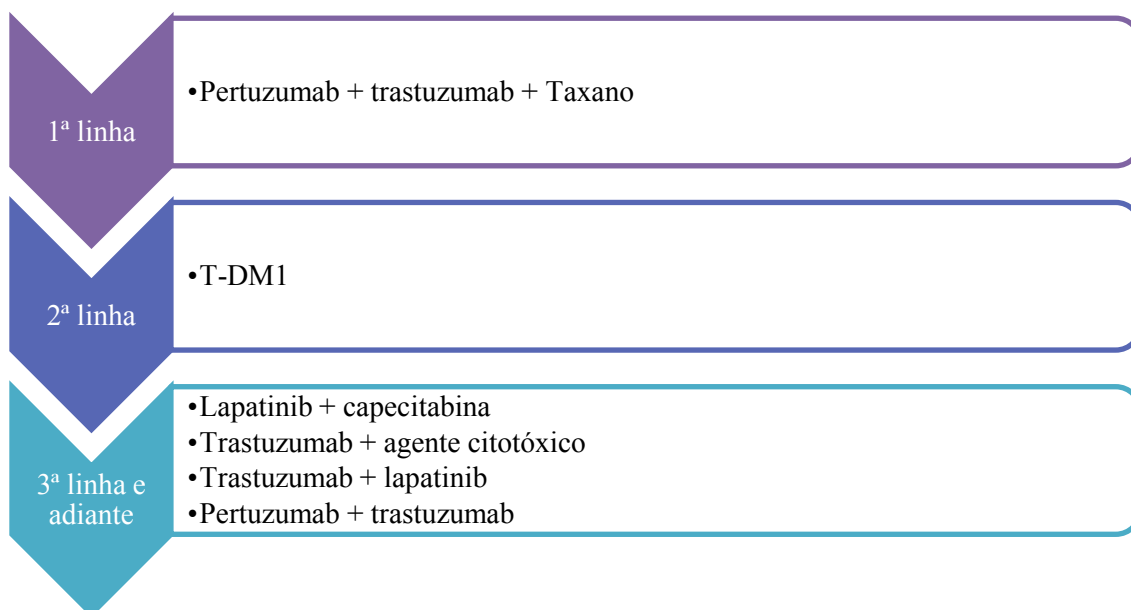


Figura 11: Sequência de opções de tratamento do CMM HER2+ (adaptada de Jiang & Rugo, 2015).

Ao longo dos anos de tratamento destes CMM verifica-se que cerca de 25% dos doentes com CMM HER2+ acabam por ter recidiva após terapêutica adjuvante com trastuzumab e, apesar da terapia combinada com quimioterapia ter demonstrado um aumento na taxa de sobrevivência e da duração de resposta, os doentes acabam também por evidenciar progressão desta neoplasia. Deste modo, são necessárias abordagens adicionais para o tratamento do CMM HER2+, entre elas: pertuzumab, lapatinib (molécula que inibe o fator de crescimento epidérmico, incluído o HER2, através da inibição dos domínios da tirosina cinase) e o ado-trastuzumab emtansina (T-DM1, anticorpo conjugado). Assim, devem ser tidas em conta algumas opções terapêuticas para o tratamento do CMM HER2+ (ver figura 11) (Jiang & Rugo, 2015).

5. Proteína APOBEC3

5.1 Família APOBEC

Em todo mundo, todos os dias, são diagnosticadas mulheres com CM. Considerada uma das neoplasias mais frequentemente diagnosticadas entre as mulheres, podendo até, em muitos países, ser encarada como a principal causa de morte por cancro. Neste contexto, os fatores genéticos têm vindo a desempenhar um papel cada vez mais importante na compreensão e etiologia do CM esporádico e de origem familiar (Han *et al.*, 2016; Rezaei *et al.*, 2015; Xuan *et al.*, 2013).

As mutações somáticas ao nível do genoma são um mecanismo crítico para a transformação das células normais em células cancerígenas, existindo incalculáveis mutações nos cancros em geral (Rezaei *et al.*, 2015). Deste modo, a instabilidade do genoma é uma característica bem reconhecida no cancro, quer ao nível das mutações na arquitetura dos cromossomas quer nas alterações mutacionais ao nível dos SNPs (Kanu *et al.*, 2016).

Recentemente, alguns estudos de associação do genoma, tendo como foco primordial a avaliação dos SNPs, identificaram cerca de 70 loci comuns relacionados com a suscetibilidade genética do CM. Contudo, a grande maioria dos novos fatores genéticos identificados, simultaneamente com os genes conhecidos, só justificam uma pequena parte da variação que se observa ao nível da hereditariedade do tumor maligno da mama (Long *et al.*, 2013; Xuan *et al.*, 2013).

Apesar do referido, a identificação das variações do número de cópias (CNV), outro tipo de variação genética, permitiu uma nova perspetiva da variação estrutural do DNA e da doença, revelando uma fonte importante da variação genética humana. As CNV ocorrem, frequentemente, ao nível do genoma, representando um espectro mais amplo do que a simples variação na sequência de nucleótidos (SNP). Segundo estudos recentes, tem sido sugerido que as CNV possam explicar melhor a ausência de hereditariedade nalgumas doenças complexas, considerando-as como variáveis causais mais prováveis do que as SNPs (Han *et al.*, 2016; Long *et al.*, 2013; Xuan *et al.*, 2013).

O enzima APOBEC compreende uma superfamília de desaminases de citidina, que permite a desaminação das citidinas, presentes no DNA de cadeia simples e no RNA, que se transformam em uracilo, permitindo assim o controlo de diversos processos biológicos, nomeadamente a regulação da expressão de genes, imunidade inata, desenvolvimento embrionário e a restrição viral. Esta família do gene APOBEC abrange, nos humanos, 11 genes: citosina desaminase induzida por ativação (AID), APOBEC1, APOBEC2 e APOBEC4 e a APOBEC3, que é constituída por 7 genes, aos quais será dado maior ênfase neste trabalho (Henderson & Fenton, 2015; Nowarski & Kotler, 2013; Revathidevi, Manikandan, Arunkumar, Rajkumar, & Ramani, 2016).

A AID é codificada por genes presentes no cromossoma 6, encontrando-se altamente expressa nos linfócitos B, contribuindo, significativamente, para a maturação e diversificação da afinidade dos anticorpos. Este gene tem como principais funções, a desaminação da citidina em uridina na cadeia simples de DNA, atividade esta subjacente à hipermutação somática e à recombinação homóloga e heteróloga, de forma a estimular a diversificação de anticorpos produzidos pelos linfócitos B (Henderson & Fenton, 2015; Knisbacher, Gerber, & Levanon, 2016; Swanton, Mcgranahan, Starrett, & Harris, 2015).

A APOBEC1 foi a primeira proteína da família APOBEC a ser descoberta e, tal como a AID, também é codificada por genes no cromossoma 6. Esta proteína funciona como um “editor” do RNA, mais especificamente, sendo responsável pela desaminação da citidina 6666 em uridina na ApoB do mRNA, neste contexto, é originado um codão “stop” que permite a criação de uma proteína mais pequena, a ApoB⁴⁸, envolvida no mecanismo de homeostase dos lípidos (Henderson & Fenton, 2015; Knisbacher et al., 2016).

A proteína APOBEC2 também se encontra no cromossoma 6, nos humanos e é expressa no coração e nos músculos esqueléticos e segundo os estudos realizados, tem atividade de desaminase da citidina (Moris, Murray, & Cardinaud, 2014).

A proteína APOBEC4 está localizada no cromossoma 1 e, tal como a APOBEC2, as suas funções não estão claramente definidas (Goila-Gaur & Strebel, 2008; Moris *et al.*, 2014).

5.2 Subfamília APOBEC3

A subfamília APOBEC3 está localizada no cromossoma 22 no locus 22q13 e é constituída por 7 genes, nomeadamente: APOBEC3A, APOBEC3B, APOBEC3C, APOBEC3DE, APOBEC3F, APOBEC3G e APOBEC3H (Moris *et al.*, 2014; Revathidevi *et al.*, 2016). As proteínas A3 podem ter diferentes localizações na célula, sendo que as A3G, A3D e A3F se localizam no citoplasma, a A3A, A3H e A3C podem ser encontradas no núcleo ou no citoplasma, enquanto que a A3B está confinada principalmente no núcleo (Covino, Gauzzi, & Fantuzzi, 2017).

Tendo em conta a sua estrutura, os genes da subfamília APOBEC3 podem ainda ser diferenciados em dois grupos, caracterizados pela presença de um ou dois domínios conservados de zinco (Z), necessários para a sua atividade de desaminase. Assim, as proteínas A3A, A3C e A3H possuem apenas um domínio de zinco, enquanto que as proteínas A3B, A3DE, A3G e A3F possuem dois. Estas diferenças estruturais podem estar subjacentes às diferenças que se observam ao nível da funcionalidade de cada uma destas proteínas (Covino *et al.*, 2017; Nowarski & Kotler, 2013).

Para além do referido, todas as proteínas da família APOBEC apresentam domínios característicos: um curto domínio em hélice α , seguido de um domínio catalítico (CD), um péptido ligante e um domínio pseudocatalítico (PCD). Nas proteínas A3B, A3F e A3G estas unidades encontram-se duplicadas, inteiras, de forma a criar uma estrutura de domínio, designada de hélice1-CD1-ligante1-PCD1-hélice2-CD2-ligante2-PCD2. Cada um dos domínios catalíticos contém na sua estrutura o motivo conservado H-X-E-(X)₂₇₋₂₈-P-C-(X)₂₋₄-C, deste modo, os resíduos de cisteína e histidina ligam-se ao zinco e o resíduo de glutamato vai permitir o transporte de prótons durante o processo de desaminação (Goila-Gaur & Strebel, 2008; Swanton *et al.*, 2015).

As proteínas que constituem a subfamília APOBEC3 atuam, preferencialmente, ao nível do DNA da cadeia simples e tem demonstrado um papel fundamental ao nível da imunidade inata antiviral, ao introduzirem mutações no DNA viral impedindo a replicação do vírus, devido à capacidade de desaminação, que permite a conversão da citidina em uracilo ($C \rightarrow U$) (Green *et al.*, 2016; Swanton *et al.*, 2015).

No entanto, as proteínas APOBEC3 têm várias funções para além do seu envolvimento na imunidade inata (Nowarski & Kotler, 2013). Deste modo,

recentemente, vários estudos têm-se interessado na capacidade da subfamília APOBEC3 poder também causar danos no genoma celular (Green *et al.*, 2016). Com os avanços ao nível do genoma de células cancerígenas e da caracterização bioquímica destas enzimas, foi possível propor que as variações que se observam nas APOBEC3 podem estar intimamente relacionadas com diversos tipos de cancros humanos, especificamente, o CM, do pulmão, bexiga, cabeça/pescoço e cancro do colo do útero (Han *et al.*, 2016; Kanu *et al.*, 2016). Neste contexto, esta capacidade de restrição viral e de predisposição para o cancro pode, em grande parte, estar relacionada com o facto de estas proteínas serem de natureza altamente polimórfica (Revathidevi *et al.*, 2016).

Nesta última década, tendo em conta o referido, as proteínas APOBEC3 têm sido encaradas como agentes mutagénicos. Assim, não só apresentam capacidade de mutar o DNA viral como também podem estar associadas à carcinogénese e à progressão de tumores, ao terem capacidade de provocar mutações ao nível do DNA (Covino *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2016; Nowarski & Kotler, 2013).

Esta hipótese da família APOBEC3 como agente capaz de provocar mutações foi, inicialmente, estruturada tendo em conta duas observações. A existência de sobre-expressão de alguns membros da família A3 nas células cancerígenas de amostras de tumores primários; e a presença de mutações tendo em conta a influência das proteínas A3 nas transições de citosina em timina (C→T) e transversões de citosina em guanina (C→G). Estes grupos de mutações de citosina são designados de *kataegis*, que ocorrem exclusivamente dentro dos motivos dinucleótidos, 5'-TC, característicos de alguns membros da família APOBEC. O mecanismo envolvido neste processo é o da desaminação da citidina em uracilo que ocorre, como já referido, preferencialmente na cadeia simples de DNA (durante a replicação ou a recombinação). Consequentemente, este processo provocará erros durante a síntese da cadeia de DNA complementar, ao haver inserção de bases de nucleótidos de adenina, resultado da transição de C para U. A atividade da proteína A3B tem estado especificamente associada a este mecanismo de mutações somáticas. (Covino *et al.*, 2017; Swanton *et al.*, 2015). A expressão das mutações provocadas pela proteína APOBEC3 pode originar uma instabilidade no genoma, induzindo substituições de bases que, por sua vez, pode levar à carcinogénese nas células humanas ou aumento de resistências aos tratamentos (Revathidevi *et al.*, 2016).

A elevada expressão da proteína A3B foi também recentemente correlacionada com o mau prognóstico do CM, estômago, rim e pulmão, sendo a principal responsável das mutações observadas em muitos cancros humanos. No entanto, o mecanismo pelo qual a proteína APOBEC3 influencia a progressão do cancro não é claro. Uma hipótese sugere que esta subfamília das APOBEC tem maior expressão nas células cancerígenas, levando ao surgimento de um oncogene ou a perda de um gene supressor de tumor que, por sua vez, está relacionada com o surgimento de mutações subclonais progressivas à medida que o tumor evolui, em alguns tipos de cancros (Kanu *et al.*, 2016).

O subtipo de CM HER2+ é particularmente afetado por mutações ao nível dos nucleótidos, possibilitando a hipótese de que a atividade da proteína APOBEC3 está presente durante a progressão da doença. Assim, tumores que apresentem HER2 amplificado e sobre-expressão de HER2 contêm uma elevada carga do número de cópias somáticas mutadas, sugerindo que este tipo de CM possa estar intimamente relacionado com a formação de cópias mutantes e com a atividade desta proteína (Salmons, Lawson, & Gu, 2017; Zheng *et al.*, 2013). Além disso, é de extrema importância referir que a expressão dos genes APOBEC3 é regulada, essencialmente, pelo estrogénio que, como já referido, é uma hormona que tem um papel central na etiologia do tumor maligno da mama (Marouf *et al.*, 2016).

Tendo em conta a CNV, alguns estudos realizados em diferentes populações, relataram a presença de um locus comum no CM em mulheres, que se localizava entre o quinto exão da proteína APOBEC3A e o oitavo exão da proteína APOBEC3B (Rezaei *et al.*, 2015). Nestes casos, ocorre uma deleção que resulta na remoção total da região de codificação da APOBEC3B, surgindo um novo gene de fusão com informação para uma proteína com uma sequência similar à APOBEC3A, mas com a terminação 3'UTR do RNAm que codifica a proteína APOBEC3B. Em consequência da transcrição desta proteína de fusão, aumenta a quantidade intracelular de APOBEC3A e há maior dano no DNA (Marouf *et al.*, 2016; Rezaei *et al.*, 2015).

Além disso, este mecanismo de deleção tem sido associado ao aumento do risco de CM tanto em mulheres asiáticas como caucasianas, com uma frequência de cerca de 37% e 6%, respetivamente. Deste modo, este polimorfismo de exclusão apresenta uma variação na sua frequência, em diferentes populações, sendo menos frequente na população Europeia e Africana, mas comum na Ásia. No entanto, é de salientar que nas

mulheres europeias este polimorfismo também se encontra significativamente associado ao risco aumentado de CM (Han *et al.*, 2016; Revathidevi *et al.*, 2016).

Em conclusão, a família APOBEC com a sua aptidão para alterar os ácidos nucleicos tem funções multifacetadas, dado que podem regular a expressão genética, o desenvolvimento embrionário, defesa do hospedeiro e diversas respostas imunes, nomeadamente a restrição viral e a diversificação de anticorpos. Por outro lado, tendo em conta a variedade de funções biológicas que as proteínas APOBEC apresentam, a sua capacidade de alterar o DNA é de extrema importância, pois pode provocar mutações indesejáveis. A sobre-expressão destes genes, por sua vez, acarreta um peso significativo nas mutações somáticas de muitos tumores humanos. Adicionalmente à sobre-expressão, as variações genéticas nos genes APOBEC apresentam também grande impacto na progressão da doença em muitos cancros (Revathidevi *et al.*, 2016).

Para além do referido a subfamília de genes APOBEC3 codifica as desaminases de citidina, desempenhando papéis cruciais na imunidade inata, ao permitirem a mutação do DNA viral impedindo assim a sua replicação (Han *et al.*, 2016). No entanto, apesar do mecanismo de regulação celular da atividade enzimática das A3 não estar ainda totalmente esclarecido, a literatura atual sugere que a sobre-expressão ou a desregulação destas enzimas pode levar à mutação do genoma (Green *et al.*, 2016). Neste contexto, e tendo em consideração o papel das A3B é também sugerido que estas proteínas podem ter um efeito na carcinogénese que poderá também explicar muitas das resistências aos fármacos que se observam nos doentes com CM (Onguru, Yalcin, Roseblit, Zhang, & Kilic, 2016). Assim, o conhecimento dos mecanismos que estão subjacentes à carcinogénese, eventualmente provocados por estas proteínas, é de extrema importância pois poderá trazer valor prognóstico e diagnóstico, bem como novas oportunidades terapêuticas para o CM (Swanton *et al.*, 2015).

6. Conclusão

O cancro da mama é, entre as mulheres, uma das neoplasias mais diagnosticadas em todo o mundo, representando os homens apenas 1% de todos os cancros de mama. Apesar da sua incidência aumentar de ano para ano, a mortalidade, em muitos países, tem vindo a diminuir gradualmente, sugerindo uma benéfica relação entre os avanços em diversas vertentes da medicina e a adesão cada vez maior aos programas de rastreio efetuados.

Muitos dos mecanismos envolvidos na génese do CM permanecem pouco claros, no entanto, há que ter em conta que esta neoplasia é de grande complexidade, com uma grande multiplicidade de fatores envolvidos na sua etiologia. Desta forma, torna-se crucial ter cada vez mais conhecimento no que diz respeito aos métodos de prognóstico e diagnóstico, bem como das novas estratégias terapêuticas, com o objetivo de, por um lado, aumentar a qualidade de vida das doentes e a sua sobrevivência e por outro, auxiliar os profissionais de saúde na prática de uma abordagem individual adequada às necessidades de cada mulher.

Neste contexto, a subfamília APOBEC3 tem ganho destaque, quer pela sua capacidade como agente mutagénico do DNA viral, quer pela sua capacidade de atuar ao nível do genoma humano, originando mutações que tem sido intimamente relacionadas com a carcinogénese e, consequentemente com a progressão e a heterogeneidade de diversos tumores humanos, incluindo o CM.

Deste modo, apesar dos mecanismos envolvidos nestes processos de mutação por parte da grande família de proteínas APOBEC não estarem bem esclarecidos, pensa-se que o conhecimento da capacidade carcinogénica da proteína APOBEC3 possa trazer valor acrescentado aos processos de prognóstico e diagnóstico do CM, bem como novas abordagens terapêuticas, por forma a contrariar muitas das resistências que são, na maior parte dos casos, inevitáveis.

Por conseguinte, a compreensão dos mecanismos que levam à ativação da família de proteínas APOBEC poderá ter bastante interesse, promovendo a criação de estratégias que consigam inibir a sua ativação. Além disso, o facto da proteína APOBEC3B, e outros membros desta vasta família, apresentarem locais ativos na sua estrutura, deverá impulsionar os investigadores no desenvolvimento de novas moléculas inibitórias capazes de suprimir a atividade da família APOBEC na carcinogénese. Em

suma, torna-se de extremo interesse que mais estudos e investigações sejam realizados neste âmbito, por forma a otimizar a abordagem aos doentes com cancro de mama.

7. Bibliografia

- Abrial, C., Mouret-Reynier, M. A., Curé, H., Feillel, V., Leheurtier, M., Lemery, S., ... Chollet, P. (2006). Neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Breast*, 15(1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2005.07.009>
- ACF. (2013). Cancro da Mama: um guia para o doente. Anticancer Fund. *European Society for Medical Oncology*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Altundag, K. & Ibrahim, N. (2006). Breast Cancer Aromatase Inhibitors in Breast Cancer : An Overview, 553–562. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.11-6-553>
- American Cancer Society. (2017). Which treatments are used for breast cancer? *American Cancer Society*, 1–6.
- Anampa, J., Makower, D. & Sparano, J. A. (2015). Progress in adjuvant chemotherapy for breast cancer: An overview. *BMC Medicine*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0439-8>
- Andreopoulou, E. & Sparano, J. a. (2013). Chemotherapy in Patients With Anthracycline - and Taxane - Pretreated Metastatic Breast Cancer: An Overview. *National Institute of Health*, 5(1), 42–50. <https://doi.org/10.1007/s12609-012-0097-1>. Chemotherapy
- Antoniou, A., Pharoah, P. D. P., Narod, S., Risch, H. A., Eyfjord, J. E., Hopper, J. L., ... Easton, D. F. (2003). Average Risks of Breast and Ovarian Cancer Associated with BRCA1 or BRCA2 Mutations Detected in Case Series Unselected for Family History: A Combined Analysis of 22 Studies. *The American Journal of Human Genetics*, 72(5), 1117–1130. <https://doi.org/10.1086/375033>
- Bayraktar, S. & Arun, B. K. (2016). *Epidemiology, Risk Factors, and Prevention*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22843-3>

- Beral, V., Bull, D., Doll, R., Peto, R. & Reeves, G. (2002). Breast cancer and breastfeeding: Collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50 302 women with breast cancer and 96 973 women without the disease. *Lancet*, 360(9328), 187–195. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09454-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09454-0)
- Bernardes, A. (2011). Anatomia da mama feminina. *Manual de Ginecologia - Volume II*, 167–174.
- Brewer, H. R., Jones, M. E., Schoemaker, M. J., Ashworth, A. & Swerdlow, A. J. (2017). Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Research and Treatment*, 165(1), 193–200. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4325-2>
- Buzdar, A. U. (2009). Role of biologic therapy and chemotherapy in hormone receptor- and HER2-positive breast cancer. *Annals of Oncology*, 20(6), 993–999. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdn739>
- Cain, H., Macpherson, I. R., Beresford, M., Pinder, S. E., Pong, J. & Dixon, J. M. (2017). Neoadjuvant Therapy in Early Breast Cancer: Treatment Considerations and Common Debates in Practice. *Clinical Oncology*, 29(10), 642–652. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2017.06.003>
- Cardoso, F., Harbeck, N., Fallowfield, L., Kyriakides, S. & Senkus, E. (2012). Locally recurrent or metastatic breast cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 23(SUPPL. 7). <https://doi.org/10.1093/annonc/mds232>
- Cardoso, F., van't Veer, L. J., Bogaerts, J., Slaets, L., Viale, G., Delaloge, S., ... Piccart, M. (2016). 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 375(8), 717–729. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1602253>
- Carraro, D. M., Elias, E. V. & Andrade, V. P. (2014). Ductal carcinoma *in situ* of the breast: morphological and molecular features implicated in progression. *Bioscience Reports*, 34(1), 19–28. <https://doi.org/10.1042/BSR20130077>
- Castro, P. (2016). *TERAPIA SISTÊMICA NO CANCRO DA MAMA METASTIZADO*.

- Charehbili, A., Fontein, D. B. Y., Kroep, J. R., Liefers, G. J., Mieog, J. S. D., Nortier, J. W. R. & Van de Velde, C. J. H. (2014). Neoadjuvant hormonal therapy for endocrine sensitive breast cancer: A systematic review. *Cancer Treatment Reviews*, 40(1), 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2013.06.001>
- Chew, H. K. (2001). Adjuvant therapy for breast cancer: who should get what? *The Western Journal of Medicine*, 174(4), 284–287. <https://doi.org/10.1136/ewj.174.4.284>
- Chlebowski, R., Kuller, L., Hendrix, S., Ravdin, P., Yasmeen, S., Rohan, T., ... Aragaki, A. (2009). Breast Cancer after Use of Estrogen plus Progestin in Postmenopausal Women. *North*, 29(10), 1883–1889. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1256>
- Chlebowski, R. T. (2017). Lifestyle and Breast Cancer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-48848-6>
- Chowdhury, R., Sinha, B., Sankar, M. J., Taneja, S., Bhandari, N., Rollins, N., ... Martines, J. (2015). Breastfeeding and maternal health outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 104, 96–113. <https://doi.org/10.1111/apa.13102>
- Cihan, Y. B. & Sarigoz, T. (2016). Role of postmastectomy radiation therapy in breast cancer patients with T1-2 and 1-3 positive lymph nodes. *OncoTargets and Therapy*, 9, 5587–5595. <https://doi.org/10.2147/OTT.S106871>
- Cirqueira, M. B., Moreira, M. A. R. M., Soares, L. R. & Freitas-Júnior, R. (2011). Subtipos moleculares do câncer de mama. *Femina*, 39, 499–503.
- Clemons, M. & Goss, P. (2001). Estrogen and the risk of breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 344(4), 276–285.
- Colditz, G. A. & Bohlke, K. (2014). Priorities for the Primary Prevention of Breast Cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.3322/caac.21225>
- Covino, D. A., Gauzzi, M. C. & Fantuzzi, L. (2017). Understanding the regulation of APOBEC3 expression: Current evidence and much to learn. *Journal of Leukocyte Biology*, (September), 1–12. <https://doi.org/10.1002/JLB.2MR0717-310R>

- Craft, B. S., Hortobagyi, G. N. & Moulder, S. L. (2007). Adjuvant Biologic Therapy for Breast Cancer. *The Cancer Journal*, 13(3), 156–161. <https://doi.org/10.1097/PPO.0b013e318074d80a>
- Cserni, G., Chmielik, E., Cserni, B. & Tot, T. (2018). The new TNM-based staging of breast cancer, (5).
- Darby, S., McGale, P., Correa, C., Taylor, C., Arriagada, R., Clarke, M., ... Wood, W. (2011). Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: Meta-analysis of individual patient data for 10 801 women in 17 randomised trials. *The Lancet*, 378(9804), 1707–1716. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61629-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61629-2)
- Davies, C., Pan, H., Godwin, J., Gray, R., Arriagada, R., Raina, V., ... Peto, R. (2013). Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *The Lancet*, 381(9869), 805–816. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61963-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61963-1)
- Deng, C. X. (2006). BRCA1: Cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Research*, 34(5), 1416–1426. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl010>
- Dent, R., Trudeau, M., Pritchard, K. I., Hanna, W. M., Kahn, H. K., Sawka, C. A., ... Narod, S. A. (2007). Triple-negative breast cancer: Clinical features and patterns of recurrence. *Clinical Cancer Research*, 13(15), 4429–4434. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-3045>
- Direção-Geral da Saúde. (s.d.). Recomendações nacionais para diagnóstico e tratamento do cancro da mama 09.
- Direção-Geral da Saúde. (2017). Programa Nacional para as Doenças Oncológicas.
- Dossus, L. & Benusiglio, P. R. (2015). Lobular breast cancer: Incidence and genetic and non-genetic risk factors. *Breast Cancer Research*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13058-015-0546-7>

- Duffy, M. J., Harbeck, N., Nap, M., Molina, R., Nicolini, A., Senkus, E. & Cardoso, F. (2017). Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). *European Journal of Cancer*, 75, 284–298. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.017>
- Duffy, M. J., O'Donovan, N., McDermott, E. & Crown, J. (2016). Validated biomarkers: The key to precision treatment in patients with breast cancer. *Breast*, 29, 192–201. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2016.07.009>
- Duggal, S., Robin, J. & Julian, T. B. (2013). Ductal carcinoma in situ: an overview. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 13(8), 955–962. [https://doi.org/10.1016/0959-8049\(92\)90042-Z](https://doi.org/10.1016/0959-8049(92)90042-Z)
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). (2005). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet*, 365(9472), 1687–1717. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66544-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66544-0)
- Emanuel Rubini Liedke, P. (2006). ONCOLOGIA BASEADA EM PROVAS / Oncology evidence-based Hormonioterapia Adjuvante em Câncer de Mama Adjuvant Hormonal Treatment in Breast Cancer. *Rev. Bras. Oncologia Clínica*, 3(2), 23–27.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359–E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>
- Filipits, M., Rudas, M., Jakesz, R., Dubsky, P., Fitzal, F., Singer, C. F., ... Gnant, M. (2011). A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clinical Cancer Research*, 17(18), 6012–6020. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0926>
- Flatley, M. J. & Dodwell, D. J. (2016). Adjuvant treatment for breast cancer. *Surgery (United Kingdom)*, 34(1), 43–46. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.10.003>
- Folkerd, E. & Dowsett, M. (2013). Sex hormones and breast cancer risk and prognosis. *Breast*, 22(S2), S38–S43. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2013.07.007>

- Ghoncheh, M., Pournamdar, Z. & Salehiniya, H. (2016). Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 17, 43–46. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.S1.43>
- Giordano, S. H., Temin, S., Kirshner, J. J., Chandarlapaty, S., Crews, J. R., Davidson, N. E., ... Winer, E. P. (2014). Systemic therapy for patients with advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology*, 32(19), 2078–2099. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.0948>
- Gnant, M., Sestak, I., Filipits, M., Dowsett, M., Balic, M., Lopez-Knowles, E., ... Cuzick, J. (2015). Identifying clinically relevant prognostic subgroups of postmenopausal women with node-positive hormone receptor-positive early-stage breast cancer treated with endocrine therapy: A combined analysis of ABCSG- 8 and ATAC using the PAM50 risk of recurrence. *Annals of Oncology*, 26(8), 1685–1691. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv215>
- Goila-Gaur, R. & Strebel, K. (2008). HIV-1 Vif, APOBEC, and intrinsic immunity. *Retrovirology*, 5, 1–16. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-5-51>
- Gomes, J. S., Lichtenfels, H., Kolankiewicz, A. C. B., Loro, M. M., Rosanelli, C. L. S. P. & Stumm, E. M. F. (2013). QUALIDADE DE VIDA NA ONCOLOGIA: Uma Revisão Bibliográfica. *Revista Contexto & Saúde*, 11(20), 463–472. Retirado de <https://www.revistas.unijui.edu.br/index.php/contextoesaude/article/view/1566b>
- Green, A. M., Landry, S., Budagyan, K., Avgousti, D., Shalhout, S., Bhagwat, A. S. & Weitzman, M. D. (2016). APOBEC3A damages the cellular genome during DNA replication, *4101*(February). <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1152426>
- Grossman, J., Ma, C. & Aft, R. (2018). Neoadjuvant Endocrine Therapy: Who Benefits Most? *Surgical Oncology Clinics of North America*, 27(1), 121–140. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2017.07.008>
- Gunderson, E. P., Matias, S. L., Hurston, S. R., Dewey, K. G., Ferrara, A., Quesenberry, C. P., ... Selby, J. V. (2011). Study of Women, Infant Feeding, and Type 2 diabetes mellitus after GDM pregnancy (SWIFT), a prospective cohort study: methodology and design. *BMC Public Health*, 11, 952. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-952>

- Gunter, M. J., Hoover, D. R., Yu, H., Wassertheil-Smoller, S., Rohan, T. E., Manson, J. E., ... Strickler, H. D. (2009). Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(1), 48–60. <https://doi.org/10.1093/jnci/djn415>
- Guray, M. & Sahin, A. A. (2006). Benign Breast Diseases : Classification , Diagnosis , and Management, 435–449.
- Haffty, B. G., Yang, Q., Reiss, M., Kearney, T., Higgins, S. A., Weidhaas, J., ... Toppmeyer, D. (2006). Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 24(36), 5652–5657. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.5664>
- Han, Y., Qi, Q., He, Q., Sun, M., Wang, S., Zhou, G. & Sun, Y. (2016). APOBEC3 deletion increases the risk of breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*, 7(46), 74979–74986. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11792>
- Harbeck, N., Schmitt, M., Meisner, C., Friedel, C., Untch, M., Schmidt, M., ... Thomssen, C. (2013). Ten-year analysis of the prospective multicentre Chemo-N0 trial validates American Society of Clinical Oncology (ASCO)-recommended biomarkers uPA and PAI-1 for therapy decision making in node-negative breast cancer patients. *European Journal of Cancer*, 49(8), 1825–1835. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.01.007>
- Henderson, S. & Fenton, T. (2015). APOBEC3 genes : retroviral restriction factors to cancer drivers. *Trends in Molecular Medicine*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.02.007>
- Hennequin, C., Barillot, I., Azria, D., Belkacémi, Y., Bollet, M., Chauvet, B., ... Mahé, M. A. (2016). Radiothérapie du cancer du sein. *Cancer/Radiotherapie*, 20, S139–S146. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2016.07.025>
- Hulka, B. S. & Moorman, P. G. (2001). Breast cancer: Hormones and other risk factors. *Maturitas*, 38(1), 103–116. [https://doi.org/10.1016/S0378-5122\(00\)00196-1](https://doi.org/10.1016/S0378-5122(00)00196-1)

- Jacobs, V. R., Kates, R. E., Kantelhardt, E., Vetter, M., Wuerstlein, R., Fischer, T., ... Harbeck, N. (2013). Health economic impact of risk group selection according to ASCO-recommended biomarkers uPA/PAI-1 in node-negative primary breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 138(3), 839–850. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2496-z>
- Jemal, A., Bray, F. & Ferlay, J. (2011). Global Cancer Statistics: 2011. *CA Cancer J Clin*, 49(2), 1,33-64. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>. Available
- Jesinger, R. A. (2014). Breast anatomy for the interventionalist. *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*, 17(1), 3–9. <https://doi.org/10.1053/j.tvir.2013.12.002>
- Jiang, H. & Rugo, H. S. (2015). Human epidermal growth factor receptor 2 positive (HER2+) metastatic breast cancer: How the latest results are improving therapeutic options. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 7(6), 321–339. <https://doi.org/10.1177/1758834015599389>
- Kanu, N., Cerone, M. A., Goh, G., Zalmas, L. P., Bartkova, J., Dietzen, M., ... Swanton, C. (2016). DNA replication stress mediates APOBEC3 family mutagenesis in breast cancer. *Genome Biology*, 17(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1042-9>
- Kgaa, M. (2014). Global Burden of Cancer in Women, 10, 74–75.
- Knauer, M., Mook, S., Rutgers, E. J. T., Bender, R. A., Hauptmann, M., van de Vijver, M. J., ... van 't Veer, L. J. (2010). The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 120(3), 655–661. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0814-2>
- Knisbacher, B. A., Gerber, D. & Levanon, E. Y. (2016). DNA Editing by APOBECs: A Genomic Preserver and Transformer. *Trends in Genetics*, 32(1), 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.10.005>
- Koo, M. M., von Wagner, C., Abel, G. A., McPhail, S., Rubin, G. P. & Lyratzopoulos, G. (2017). Typical and atypical presenting symptoms of breast cancer and their associations with diagnostic intervals: Evidence from a national audit of cancer diagnosis. *Cancer Epidemiology*, 48, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2017.04.010>

- Krishnamurti, U. & Silverman, J. F. (2014). HER2 in Breast Cancer: A Review and Update. *Adv Anat Pathol*, 21(2), 100–107. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000015>
- Kutomi, G., Mizuguchi, T., Satomi, F., Maeda, H., Shima, H., Kimura, Y. & Hirata, K. (2017). Current status of the prognostic molecular biomarkers in breast cancer: A systematic review (Review). *Oncology Letters*, (4), 1491–1498. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5609>
- Lehmann, B. D., Bauer, J. A., Chen, X., Sanders, M. E., Chakravarthy, A. B., Shyr, Y. & Pietenpol, J. A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *Journal of Clinical Investigation*, 121(7), 2750–2767. <https://doi.org/10.1172/JCI45014>
- Liu, S., Chapman, J. A. W., Burnell, M. J., Levine, M. N., Pritchard, K. I., Whelan, T. J., ... Gelmon, K. A. (2015). Prognostic and predictive investigation of PAM50 intrinsic subtypes in the NCIC CTG MA.21 phase III chemotherapy trial. *Breast Cancer Research and Treatment*, 149(2), 439–448. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3259-1>
- Long, J., Delahanty, R. J., Li, G., Gao, Y. T., Lu, W., Cai, Q., ... Zheng, W. (2013). A common deletion in the APOBEC3 genes and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(8), 573–579. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt018>
- Lourdes, C. De, Piovesan, S., Loro, M. M., Elenise, G., Herr, G., Cristina, A. & Kolankiewicz, B. (2015). DOENÇA ONCOLÓGICA Conhecimento e Práticas de Cuidado de Homens em Tratamento, 67–75.
- Luiza, A., Francioli, D. S., Elaine, L., Cortez, R., Picinin, M. & Yamaguchi, M. U. (2014). Quimioterápicos Utilizados No Tratamento Do Cancro De Mama.
- Lux, M. P., Janni, W., Hartkopf, A. D., Nabieva, N., Taran, F.-A., Overkamp, F., ... Fasching, P. A. (2017). Update Breast Cancer 2017 - Implementation of Novel Therapies. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, 77(12), 1281–1290. <https://doi.org/10.1055/s-0043-122885>

- Marouf, C., Göhler, S., Inacio, M., Silva, D., Hajji, O., Hemminki, K., ... Försti, A. (2016). Analysis of functional germline variants in APOBEC3 and driver genes on breast cancer risk in Moroccan study population. *BMC Cancer*, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2210-8>
- Martin, M., Brase, J. C., Calvo, L., Krappmann, K., Ruiz-Borrego, M., Fisch, K., ... Rodriguez-Lescure, A. (2014). Clinical validation of the EndoPredict test in node-positive, chemotherapy-treated ER+/HER2- breast cancer patients: Results from the GEICAM 9906 trial. *Breast Cancer Research*, 16(2), 1–11. <https://doi.org/10.1186/bcr3642>
- Martin, M., Holmes, F. A., Ejlersen, B., Delaloge, S., Moy, B., Iwata, H., ... Charif, M. (2017). Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in HER2-positive breast cancer (ExteNET): 5-year analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 18(12), 1688–1700. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30717-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30717-9)
- Mcguire, K. P. (2016). Breast Anatomy and Physiology. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22843-3>
- McPherson, K. (2000). ABC of breast diseases: Breast cancer---epidemiology, risk factors, and genetics. *Bmj*, 321(7261), 624–628. <https://doi.org/10.1136/bmj.321.7261.624>
- Mørch, L. S., Skovlund, C. W., Hannaford, P. C., Iversen, L., Fielding, S. & Lidegaard, Ø. (2017). Contemporary Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 377(23), 2228–2239. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal700732>
- Moris, A., Murray, S. & Cardinaud, S. (2014). AID and APOBECs span the gap between innate and adaptive immunity. *Frontiers in Microbiology*, 5(OCT), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00534>
- National Institute for Health and Care Excellence. (2009). Early and locally advanced breast cancer: diagnosis and treatment NICE CG80. *NICE Guidelines*, (February 2009). Retrieved from <http://www.nice.org.uk/guidance/cg80>

- Nazarali, S. & Narod, S. a. (2014). Tamoxifen for women at high risk of breast cancer. *Breast Cancer (Dove Medical Press)*, 6, 29–36. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S43763>
- NCCN. (2011). Linhas de Orientação NCCN Para Doentes.
- NHS Scotland. (2015). Scottish Referral Guidelines for Suspected Cancer Quick Reference Guide Scottish Referral Guidelines for Suspected Cancer Quick Reference Guide, (May).
- Nicolini, A., Ferrari, P. & Duffy, M. J. (2017). Prognostic and predictive biomarkers in breast cancer: Past, present and future. *Seminars in Cancer Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.010>
- Nowarski, R. & Kotler, M. (2013). APOBEC3 Cytidine Deaminases in Double-Strand DNA Break Repair and Cancer Promotion. *NIH Public Access*. <https://doi.org/10.1021/nl061786n.Core-Shell>
- Onguru, O., Yalcin, S., Rosemblyt, C., Zhang, P. J. & Kilic, S. (2016). APOBEC3B expression in drug resistant MCF-7 breast cancer cell lines. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 79, 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.004>
- Onitilo, A. A., Engel, J. M., Greenlee, R. T. & Mukesh, B. N. (2009). Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: Comparison of clinicopathologic features and survival. *Clinical Medicine and Research*, 7(1–2), 4–13. <https://doi.org/10.3121/cmr.2009.825>
- Osborne, C., Wilson, P. & Tripathy, D. (2004). Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Breast Cancer: Potential Diagnostic and Therapeutic Applications. *The Oncologist*, 9(4), 361–377. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.9-4-361>
- Ozsaran, Z. & Alanyah, S. (2013). Staging of Breast Cancer. In *Principles and Practice of Modern Radiotherapy Techniques in Breast Cancer* (pp. 1–358). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5116-7_2
- Paik, S., Tang, G., Shak, S., Kim, C., Baker, J., Kim, W., ... Wolmark, N. (2006). Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 24(23), 3726–3734. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.7985>

- Palmieri, C., Cleator, S., Kilburn, L. S., Kim, S. B., Ahn, S. H., Beresford, M., ... Coombes, R. C. (2014). NEOCENT: a randomised feasibility and translational study comparing neoadjuvant endocrine therapy with chemotherapy in ER-rich postmenopausal primary breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 148(3), 581–590. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3183-4>
- Pandya, S. & Moore, R. (2011). Breast Development and Anatomy, *i(C)*, 91–95.
- Perera, R. M. & Bardeesy, N. (2012). On Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in the Mammary Gland. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4, 1–5. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a013466>
- Pike, M. C., Ross, R. K., Paganini-Hill, A. & Wan, C. P. (2000). Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: Estrogen versus estrogen plus progestin. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(23), 1950–1951.
- Rakha, E. A., El-Sayed, M. E., Powe, D. G., Green, A. R., Habashy, H., Grainge, M. J., ... Ellis, I. O. (2008). Invasive lobular carcinoma of the breast: Response to hormonal therapy and outcomes. *European Journal of Cancer*, 44(1), 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.10.009>
- Reinert, T. & Barrios, C. H. (2015). Optimal management of hormone receptor positive metastatic breast cancer in 2016. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 7(6), 304–320. <https://doi.org/10.1177/1758834015608993>
- Revathidevi, S., Manikandan, M., Arunkumar, G., Rajkumar, K. S. & Ramani, R. (2016). Analysis of APOBEC3A / 3B germline deletion polymorphism in breast , cervical and oral cancers from South India and its impact on miRNA regulation. *Tumor Biology*. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5064-4>
- Rezaei, M., Hashemi, M., Hashemi, S. M., Mashhadi, M. A. & Taheri, M. (2015). APOBEC3 Deletion is Associated with Breast Cancer Risk in a Sample of Southeast Iranian Population. *Ijmcm*, 4(2), 4–9.
- Robertson, J. F. R., Osborne, C. K., Howell, A., Jones, S. E., Mauriac, L., Ellis, M., ... Morris, C. (2003). Fulvestrant versus anastrozole for the treatment of advanced breast carcinoma in postmenopausal women: A prospective combined analysis of two multicenter trials. *Cancer*, 98(2), 229–238. <https://doi.org/10.1002/cncr.11468>

- Rodrigues, J. C. J., Silva, L. C. F. & Cardoso, R. A. (2016). Breast cancer: from diagnosis to treatment. *Revista Master*, 1(1), 48–56. <https://doi.org/10.5935/2447-8539.20160004>
- Roy, R., Chun, J. & Powell, S. N. (2016). BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer*, 12(1), 68–78. <https://doi.org/10.1038/nrc3181.BRCA1>
- Saghathchian, M., Mook, S., Pruneri, G., Viale, G., Glas, A. M., Guerin, S., ... van't Veer, L. (2013). Additional prognostic value of the 70-gene signature (MammaPrint®) among breast cancer patients with 4-9 positive lymph nodes. *Breast*, 22(5), 682–690. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2012.12.002>
- Salmons, B., Lawson, J. S. & Gu, W. H. (2017). Recent developments linking retroviruses to human breast cancer: infectious agent, enemy within or both?, (2014), 2589–2593. <https://doi.org/10.1099/vir.0.070631-0>
- Samoli, E., Trichopoulos, D., Laggiou, A., Zourna, P., Georgila, C., Minaki, P., ... Laggiou, P. (2013). The hormonal profile of benign breast disease. *British Journal of Cancer*, 108(1), 199–204. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.493>
- Sandoval-Leon, A. C., Drews-Elger, K., Gomez-Fernandez, C. R., Yepes, M. M., & Lippman, M. E. (2013). Paget's disease of the nipple. *Breast Cancer Research and Treatment*, 141(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2661-4>
- Sekiguchi, K., Ogawa, Y., Sanuki, N., Arahira, S., Ogo, E., Yoshimura, M., ... Mukai, H. (2015). The Japanese Breast Cancer Society clinical practice guideline for radiotherapy of breast cancer. *Breast Cancer*, 22(1), 49–58. <https://doi.org/10.1007/s12282-014-0548-9>
- Semiglazov, V. F., Semiglazov, V. V., Dashyan, G. A., Ziltsova, E. K., Ivanov, V. G., Bozhok, A. A., ... Berstein, L. M. (2007). Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer*, 110(2), 244–254. <https://doi.org/10.1002/cncr.22789>
- Silva, A. E. da, Serakides, R. & Cassali, G. D. (2004). Carcinogénese hormonal e neoplasias hormonio-dependentes. *Ciência Rural*, 34(2), 625–633. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000200048>

- Slamon, D., Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Bajamonde, A., ... Norton, L. (2001). Use of Chemotherapy Plus a Monoclonal Antibody Against Her2. *The New England Journal of Medicine*, 344(11), 783–792. <https://doi.org/10.1056/NEJM200103153441101>
- Sorouch, A., Farshchian, N., Komasi, S., Izadi, N., Amirifard, N. & Shahmohammadi, A. (2016). The Role of Oral Contraceptive Pills on Increased Risk of Breast Cancer in Iranian Populations: A Meta-analysis. *Journal of Cancer Prevention*, 21(4), 294–301. <https://doi.org/10.15430/JCP.2016.21.4.294>
- Stuckey, A. (2011). Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clinical Obstetrics And Gynecology*, 54(1), 96–102. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000239>
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., ... Zhu, H. P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 13(11), 1387–1397. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
- Swanton, C., Mcgranahan, N., Starrett, G. J. & Harris, R. S. (2015). APOBEC Enzymes: Mutagenic Fuel for Cancer Evolution and Heterogeneity, (14). <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0344>
- Tamimi, R. M., Spiegelman, D., Smith-Warner, S. A., Wang, M., Pazaris, M., Willett, W. C., ... Hunter, D. J. (2016). Population attributable risk of modifiable and nonmodifiable breast cancer risk factors in postmenopausal breast cancer. *American Journal of Epidemiology*, 184(12), 884–893. <https://doi.org/10.1093/aje/kww145>
- Tice, J. A., Miglioretti, D. L., Li, C.-S., Vachon, C. M., Gard, C. C. & Kerlikowske, K. (2015). Breast Density and Benign Breast Disease: Risk Assessment to Identify Women at High Risk of Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 33(28), 3137–3143. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.60.8869>
- Tice, J. A., O'Meara, E. S., Weaver, D. L., Vachon, C., Ballard-Barbash, R. & Kerlikowske, K. (2013). Benign breast disease, mammographic breast density, and the risk of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(14), 1043–1049. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt124>

- Unar-Munguia, M., Torres-Mejia, G., Colchero, M. A. & Gonzalez de Cosio, T. (2017). Breastfeeding Mode and Risk of Breast Cancer. *Journal of Human Lactation : Official Journal of International Lactation Consultant Association*, 890334416683676. <https://doi.org/10.1177/0890334416683676>
- Vaidya, J. S., Massarut, S., Vaidya, H. J., Alexander, E. C., Richards, T., Caris, J. A., ... Tobias, J. S. (2017). Rethinking neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Bmj*, 5913(January), j5913. <https://doi.org/10.1136/bmj.j5913>
- Van Uden, D. J. P., van Laarhoven, H. W. M., Westenberg, A. H., de Wilt, J. H. W. & Blanken-Peeters, C. F. J. M. (2015). Inflammatory breast cancer: An overview. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 93(2), 116–126. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2014.09.003>
- Venkitaraman, R. (2010). Lobular neoplasia of the breast. *Breast Journal*, 16(5), 519–528. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4741.2010.00971.x>
- Vuong, D., Simpson, P. T., Green, B., Cummings, M. C. & Lakhani, S. R. (2014). Molecular classification of breast cancer. *Virchows Archiv*, 465(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00428-014-1593-7>
- Wahid, B. (2017). An Update on Breast Cancer Biomarkers. *MOJ Immunology*, 5(2). <https://doi.org/10.15406/moji.2017.05.00150>
- Ward, E. M., DeSantis, C. E., Lin, C. C., Kramer, J. L., Jemal, A., Kohler, B., ... Gansler, T. (2015). Cancer statistics: Breast cancer in situ. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(6), 481–495. <https://doi.org/10.3322/caac.21321>
- Weigel, M. T. & Dowsett, M. (2010). Current and emerging biomarkers in breast cancer: Prognosis and prediction. *Endocrine-Related Cancer*, 17(4). <https://doi.org/10.1677/ERC-10-0136>
- Xuan, D., Li, G., Cai, Q., Deming-Halverson, S., Shrubsole, M. J., Shu, X. O., ... Long, J. (2013). APOBEC3 deletion polymorphism is associated with breast cancer risk among women of European ancestry. *Carcinogenesis*, 34(10), 2240–2243. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt185>

- Youlten, D. R., Cramb, S. M., Dunn, N. A. M., Muller, J. M., Pyke, C. M. & Baade, P. D. (2012). The descriptive epidemiology of female breast cancer: An international comparison of screening, incidence, survival and mortality. *Cancer Epidemiology*, 36(3), 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2012.02.007>
- Zheng, J., Parnell, L. D., Smith, C. E., Lee, Y., Jamal-, A., Ma, Y., ... Lai, C. (2013). An APOBEC Cytidine Deaminase Mutagenesis Pattern is Widespread in Human Cancers, 60(1), 186–196. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.215251>.Circulating
- Zhou, Y., Chen, J., Li, Q., Huang, W., Lan, H. & Jiang, H. (2015). Association Between Breastfeeding and Breast Cancer Risk: Evidence from a Meta-analysis. *Breastfeeding Medicine*, 10(3), 175–182. <https://doi.org/10.1089/bfm.2014.0141>
- Zurrida, S., Nole, F., Bonanni, B., Mastropasqua, M. G., Arnone, P., Gentilini, O. & Latronico, A. (2010). Male breast cancer. *Future Oncol*, 6(6), 985–991. <https://doi.org/10.2217/fon.10.55>

Anexo I – Classificação TNM (8ª edição, 2017) segundo a União Internacional para o Controlo do Cancro (UICC) (adaptada de Brierley, Gospodarowicz & Wittekind, 2017).

T – Tumor Primário

TX – Tumor primário não pode ser avaliado;

T0 – Não há evidência de tumor primário;

Tis – Carcinoma in situ;

Tis – Carcinoma ductal in situ (DCIS);

Tis – Carcinoma lobular in situ (LCIS);

Tis – Doença de Paget do mamilo não associada com carcinoma invasivo e / ou carcinoma in situ (DCIS e / ou LCIS) no parênquima de mama subjacente.

Os carcinomas no parênquima da mama associado à doença de Paget são classificados com base no tamanho e nas características da doença do parênquima, embora ainda seja observada a presença de doença de Paget.

T1 – Tumor menor ou igual a 2 cm

- T1mi – Microinvasão 0.1.cm ou menos na maior dimensão
- T1a – Mais de 0.1 cm, mas menor que 0.5.cm na maior dimensão
- T1b – Mais do que 0.5.cm, mas menor que 1cm na maior dimensão
- T1c – Mais de 1 cm, mas menor que 2.cm na maior dimensão

T2 – Tumor com mais de 2 cm, mas menor que 5 cm na maior dimensão

T3 – Tumor com mais de 5 cm

T4 – Tumor de qualquer tamanho com extensão direta para a parede do tórax e / ou para a pele (ulceração ou nódulos na pele)

- T4a – Extensão para a parede torácica (não inclui invasão muscular peitoral)
- T4b – Ulceração, nódulos cutâneos homolaterais, ou edema cutâneo (incluindo pele em casca de laranja);
- T4c – Ambos T4a e T4b
- T4d – Carcinoma inflamatório

N – Nódulos linfáticos regionais

NX – Os gânglios linfáticos regionais não podem ser avaliados (ex.: previamente removidos)

N0 – Não há evidência de metástases nos gânglios linfáticos regionais

N1 – Metástase nos gânglios linfáticos axilares homolaterais móveis nível I e II

N2 – Metástase no (s) gânglio (s) linfático (s) axilar (es) homolaterais, fixos entre (conglomerado) ou a outras estruturas, ou em gânglios linfáticos internos mamários homolaterais com metastização clinica aparente, sem evidência de metastização axilar.

- N2a – Metástase em gânglios axilares homolaterais fixos entre si (em camadas) ou a outras estruturas
- N2b – Metastização clinicamente aparente dos gânglios da cadeia mamária interna sem evidência de metástases axilares

N3 – Metástase no(s) gânglio(s) linfático(s) infraclavicular homolaterais (nível III axilar) com ou sem envolvimento ganglionar axilar; ou gânglios da cadeia mamária homolaterais interna com metastização axilar de nível I, II clinicamente evidente; ou metástase no (s) gânglio(s) linfático(s) supraclavicular(es) homolateral independentemente da presença de metastização axilar ou da cadeia mamária interna.

- N3a – Metástase em gânglios linfáticos infraclaviculares homolaterais e em gânglios axilares.
- N3b – Metástase em gânglios da cadeia mamária interna homolaterais e em gânglios axilares.
- N3c – Metástase em gânglios supraclaviculares homolaterais.

N Patológico

pNX – Os gânglios linfáticos regionais não podem ser avaliados (ex.: previamente removidos, não removidos para estudo patológico)

pN0 – Não há evidência de metástases nos gânglios linfáticos regionais

pN1 – Micrometástases ou metástases em 1 a 3 gânglios linfáticos axilares homolaterais e/ou gânglios da cadeia mamária interna com metástases detetadas por biópsia do gânglio sentinela, mas não detetada clinicamente.

- pN1mi – Micrometástases (maiores do que 0.2 mm e/ou mais do que 200 células, mas inferiores a 2.0 mm)
- pN1a – Metástases em 1 a 3 gânglios linfáticos axilares, incluindo pelo menos um maior que 2 mm
- pN1b – Gânglios linfáticos da cadeia mamária interna
- pN1c – Metástases em 1 a 3 gânglios linfáticos axilares e nos gânglios da cadeia mamária interna

pN2 – Metástases em 4 – 9 gânglios linfáticos axilares homolaterais, ou gânglios da cadeia mamária interna homolaterais com metastização clinicamente aparente, com ausência de metastização nos gânglios linfáticos axilares

- pN2a – Metástases em 4 – 9 gânglios linfáticos axilares, incluindo pelo menos um maior que 2 mm
- pN2b – Metástases clinicamente detetadas nos gânglios linfáticos da cadeia mamária interna, na ausência de metastização dos gânglios linfáticos axilares

pN3

- pN3a – Metástases em 10 ou mais gânglios linfáticos homolaterais axilares (pelo menos um superior a 2 mm) ou metastização nos gânglios linfáticos infraclaviculares
- pN3b – Metástases nos gânglios da cadeia mamária interna homolaterais, clinicamente detetados, na presença de gânglios linfáticos axilares positivos; ou metastização em mais de 3 gânglios linfáticos axilares e nos gânglios linfáticos da cadeia mamária interna detetadas microscopicamente e macroscopicamente por biópsia do gânglio sentinela, não clinicamente detetada
- pN3c – Metastização dos gânglios linfáticos homolaterais supraclaviculares

M – Metástases à Distância

M0 – Sem metástases à distância

M1 – Presença de metástases à distância